

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MONICA EBOLY BARÉS

**DIGESTÃO E HIGIENIZAÇÃO DE LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE
ESGOTOS ATRAVÉS DE PROCESSO BIFÁSICO COM PRÉ-TRATAMENTO
TÉRMICO**

CURITIBA

2010

MONICA EBOLY BARÉS

**DIGESTÃO E HIGIENIZAÇÃO DE LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE
ESGOTOS ATRAVÉS DE PROCESSO BIFÁSICO COM PRÉ-TRATAMENTO
TÉRMICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, Área de Concentração em Engenharia Ambiental, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental.

Orientadora: Prof^a. Maria Cristina Borba Braga, PhD

Coorientador: Prof^o. Dr. Adalberto Noyola Robles

CURITIBA

2010

Barés, Monica Eboly

Digestão e higienização de lodo de estação de tratamento de esgotos através de processo bifásico com pré-tratamento térmico / Monica Eboly Barés. – Curitiba, 2010.

134 f. : il.; tab.

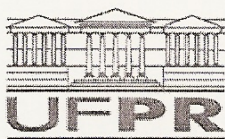
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental.

Orientadora: Maria Cristina Borba Braga

Coorientador: Adalberto Noyola Robles

1. Lodo de esgoto. I. Braga, Maria Cristina Borba. II. Noyola Robles, Adalberto. II. Título.

CDD 628.39



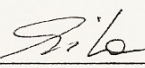
TERMO DE APROVAÇÃO

MONICA EBOLY BARES

“DIGESTÃO E HIGIENIZAÇÃO DE LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO EM PROCESSO BIFÁSICO COM PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO”

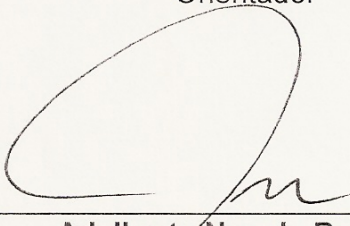
Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores:

PRESIDENTE:

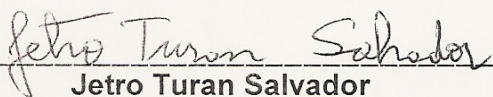


Maria Cristina Borba Braga
Universidade Federal do Paraná
Orientador

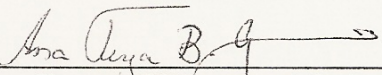
MEMBROS:



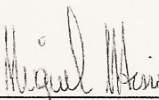
Adalberto Noyola Robles
Universidade Nacional Autónoma do México
Coorientador



Jetro Turan Salvador
Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia - PR



Ana Tereza Bittencourt Guimarães
Instituto Federal do Paraná – Foz do Iguaçu

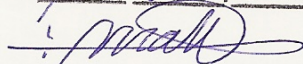


Miguel Mansur Aisse
Universidade Federal do Paraná



Cópia Fiel do Original

13/04/2011


62219

Curitiba, 31 de agosto de 2010

*Dedico
aos meus pais, Luci (in memoriam) e Theodoro,
por proporcionarem uma valiosa educação.*

*Aos meus irmãos, Theodoro, Flávio e Kerla,
pelo carinho, incentivo e dedicação.*

*Ao meu querido marido, Fábio,
e as minhas filhas, Natália e Letícia,
pelo amor e paciência.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me iluminar durante todo o desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, de grande valia nesta etapa da minha vida.

À Universidade Federal do Paraná – UFPR, em particular ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, pela oportunidade de tornar este sonho realidade.

À professora e orientadora Maria Cristina Borba Braga, pela valiosa orientação, pelos conhecimentos compartilhados durante toda a realização desta pesquisa, pelo incentivo e amizade.

Ao professor Adalberto Noyola, pela coorientação, atenção durante a realização desta pesquisa e pela amizade.

Ao professor Miguel Mansur Aisse, pelo incentivo, confiança, competência, disponibilidade e amizade.

Ao professor Sérgio Michelotto Braga, pela amizade, colaboração indispensável para solucionar problemas relacionados ao equipamento. O seu conhecimento e colaboração foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

À professora Blanca E. Jiménez Cisneros, e Margarita Cisneros do Instituto de Engenharia – UNAM, pela disponibilização de material de apoio e esclarecimentos na metodologia estudada.

Aos professores Cristóvão Fernandes, Júlio César Rodrigues de Azevedo, Edna Beronheiro Signorelli Toledo, pela atenção e sugestões para o desenvolvimento da pesquisa.

À Universidade Positivo – UP, em particular ao professor Marco Aurélio da Silva Carvalho Filho, Diretor Geral *Stricto Sensu*, pela permissão de acesso irrestrito aos laboratórios em que foram realizados o treinamento em parasitologia e microbiologia e o desenvolvimento de parte fundamental desta pesquisa.

Outros agentes também foram fundamentais, portanto, é fundamental agradecer às professoras, Ana Tereza Bittencourt Guimarães e Lúcia de Fátima Amorim Poy, pela disponibilização dos laboratórios de parasitologia e microbiologia, fundamental para aprendizado e a implementação das técnicas, e às técnicas dos laboratórios Karla Heloise Preussler, Carolina Melissa Delong, Taís Canova, Sheila Richeta e Thais L Baggio, ex-funcionárias da UP.

À Companhia de Saneamento do Paraná – SANEPAR, em especial, aos engenheiros Cíntia Monteiro Hartmann e Giancarlo Lupatini, cuja colaboração foi fundamental ao desenvolvimento desta pesquisa.

Ao TECPAR, em especial à equipe de Carmem Etsuko Kataoka Higaskino, pelo treinamento em microbiologia.

À Maria Carolina Vieira da Rocha, Marisa Weber, Natália Costa Dias e Carla Cristina Bem, pela amizade, disponibilidade, dedicação, seriedade, de grande contribuição no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colegas, Guilherme Samways, Karina Scurupa Machado, Marcell Maceno, Nicole Oliveira, Patrícia Arns, Ana Lúcia Marchezetti, Carolina Tozetto e Raquel Fernandes Martins, Michael Manich pelo carinho, incentivo, amizade e pela agradável convivência.

Ao Luís Carlos Barbosa e Artur Braga pelo apoio logístico e técnico, também fundamentais ao desenvolvimento desta pesquisa.

Devo agradecer, em especial, ao CNPq e à CAPES, que proveram o financiamento desta pesquisa.

Uma vida não basta ser apenas vivida:
também precisa ser sonhada.

“Mário Quitana”

RESUMO

A reciclagem agrícola do lodo de esgoto apresenta-se como uma alternativa viável, tanto sob o ponto de vista econômico quanto ambiental. Para este estudo foi avaliada a relação temperatura *versus* tempo para a inativação de ovos viáveis de helmintos em reator termohidrolizador, seguido de um reator de hidrólise tipo UASB (RH), que tem a função de digerir o lodo, com elutriação quando acrescentado o reator metanogênico (RM). Assim, o efluente produzido pelo reator RH é conduzido para o reator metanogênico (RM), e o efluente deste último é recirculado para o reator de hidrólise. A composição do lodo misto compõe na mistura de lodo primário na proporção de 60% em massa, proveniente de instalação piloto localizado na estação de tratamento de esgoto da SANEPAR (ETE-Belém) em Curitiba-PR; e lodo secundário na proporção de 40% em massa, proveniente da estação de tratamento de esgoto da SANEPAR (ETE-AUDI), em São José dos Pinhais – PR. As condições de tratamento térmico foram avaliar a relação temperatura *versus* tempo mais adequada para a remoção de patógenos, como *Salmonella* spp, coliformes termotolerantes e ovos de helmintos. Para isso, à mistura de lodos, foram aplicadas as temperaturas de 50 °C, 60 °C e 70 °C *versus* tempos de aquecimento de 30 min, 60 min e 90 min. A análise do resultado obtido estatisticamente indicou a combinação de 60 °C a 60 minutos, como condição adequada, considerando a economia de energia elétrica e tempo de trabalho. Como resultado final foi obtido valor de 0,25 ovo/g de ST para ovos viáveis de helmintos e 10^1 NMP/g de ST para coliformes termotolerantes para as condições de trabalho (60°C e 60 min). Para todas as amostras, com e sem tratamento térmico, foi identificada a ausência de *Salmonella* spp. Os resultados obtidos permitiram concluir que o tratamento proposto foi eficiente, atingindo as especificações da Resolução CONAMA nº 375/06 para lodo classe A. O lodo tratado termicamente foi encaminhado a um processo bifásico, utilizando reatores tipo UASB. O reator (RH) operou com altas taxas com aplicação de sólidos (de 2,4 kg STT. m^{-1} . dia^{-1} a 6,5 kg STT . m^{-1} . dia^{-1}), podendo ser afirmado que houve digestão da matéria orgânica no reator (RH).

Palavra-chave: higienização térmica, lodo de esgoto, ovos de helmintos, método de Yanko modificado, reator UASB, processo bifásico de tratamento.

ABSTRACT

Agricultural reuse of sewage sludge is presented as a viable alternative, both economically and environmentally. This study was carried out to assess the inactivation of helminth eggs through the evaluation of temperature versus time of exposure in a thermal-hydrolyser reactor, followed by a hydrolysis reactor UASB type (RH), whose function is to digest the sludge, with elutriation when added to methanogenic (RM). Thus, the effluent produced by the reactor is led RH for the methanogenic reactor (RM), and the latter effluent is recirculated to the hydrolysis reactor. The composition of the mixed sludge consists of a mixture of primary sludge in the ratio of 60% by mass, from pilot plant located at the sewage treatment plant of SANEPAR (ETE-Belém) Curitiba-PR, and secondary sludge in the ratio of 40% mass from the sewage treatment plant of SANEPAR (ETE-AUDI) Pinhais - PR. The thermal treatment conditions were to evaluate the most appropriate temperature *versus* time for removal of pathogens, as *Salmonella* spp, coliforms and helminth eggs. For this, the mixture of sludge were applied at temperatures of 50 ° C, 60 ° C and 70 ° C *versus* heating times of 30 minutes, 60 minutes and 90 minutes. In order to decide on the best relationship between the thermal characteristics, with the aim to save energy and working time, the results were analysed by statistical procedures, more specifically the Tuckey test, which indicated that the combination between 60°C and 60 minutes, was the most appropriate condition to develop the study. Results showed quantitative values of 0.25 egg/TS for viable helminths and 10¹ MPN/g TS for fecal coliform under the conditions of study (60°C and 60 min). *Salmonella* spp. was not identified in all samples, with and without heat treatment. The results showed that the treatment was effective, and comply with Resolução CONAMA 375/06, which specifies Brazilian standard values for agricultural reuse of sewage sludge. The treated sludge thermally was referred to a biphasic process using UASB type reactors. The reactor (RH) operated at high rates with application of solids (2.4 kg STT. day⁻¹. m⁻¹.to 6.5 kg STT.m⁻¹.day⁻¹), can be affirmed that there were digested organic matter in reactor (RH).

Keywords: thermal higienization, sewage sludge, viable helminth eggs, Yanko's modified method, reactor UASB, process biphasic treatment.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CLASSIFICAÇÃO DOS PARASITAS INTESTINAIS	38
FIGURA 2.2 – VÁRIOS OVOS DE HELMINTOS	40
FIGURA 2.3 – MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE ALGUNS OVOS DE HELMINTOS	40
FIGURA 2.4 – TAMANHO RELATIVO DOS OVOS DE HELMINTOS	41
FIGURA 2.5 – OVOS DE HELMINTOS E ESTÁGIO LARVAL	41
FIGURA 2.6 – DESENVOLVIMENTO DA LARVA DO OVO DE <i>ASCARIS LUMBRICOIDES</i>	43
FIGURA 2.7 - TARDÍGRADA (URSO D'ÁGUA)	50
FIGURA 2.8 – MICROSCOPIA ÓTICA DE <i>ISOSPORA BELLI</i>	51
FIGURA 2.9 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA PROPOSTA PARA A DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DA MATÉRIA ORGÂNICA	53
FIGURA 2.10 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM UASB	58
FIGURA 3.1 – ESTAÇÃO PILOTO (ETE-BELÉM, CURITIBA – PR)	63
FIGURA 3.2 – SEDIMENTAÇÃO DAS AMOSTRAS - INÍCIO DAS 12H DE SEDIMENTAÇÃO	66
FIGURA 3.3 – SEDIMENTAÇÃO DAS AMOSTRAS - APÓS 12H DE SEDIMENTAÇÃO	66
FIGURA 3.4 - ADAPTAÇÕES E IMPLEMENTAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO E DA VIABILIDADE <i>IN VITRO</i> DE OVOS DE HELMINTOS (MÉTODO DE YANKO MODIFICADO) - 1º ETAPA – 1º DIA	66
FIGURA 3.5 - ADAPTAÇÕES E IMPLEMENTAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO E DA VIABILIDADE <i>IN VITRO</i> DE OVOS DE HELMINTOS (MÉTODO DE YANKO MODIFICADO) - 2º ETAPA – 2º DIA	67
FIGURA 3.6 - ADAPTAÇÕES E IMPLEMENTAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO E DA VIABILIDADE <i>IN VITRO</i> DE OVOS DE HELMINTOS (MÉTODO DE YANKO MODIFICADO) - 3º ETAPA – 2º DIA	67
FIGURA 3.7 – CÁLICE DE SEDIMENTAÇÃO COM A AMOSTRA	68

FIGURA 3.8 – TUBOS FALCON: A) ANTES DA CENTRIFUGAÇÃO, B) APÓS A CENTRIFUGAÇÃO	68
FIGURA 3.9 – SEDIMENTAÇÃO PARA O PERÍODO DE 3 HORAS.....	69
FIGURA 3.10 – MEIOS DE CULTIVOS PARA <i>SALMONELLA</i> SPP.....	71
FIGURA 3.11 – TUBOS DE CALDO VERDE BRILHANTE BILE	72
FIGURA 3.12 – TUBOS DE CALDO <i>E. COLI</i> EM BANHO-MARIA	73
FIGURA 3.13 - TUBOS DE CALDO <i>E. COLI</i>	73
FIGURA 3.14 – ESQUEMA DE ANÁLISE PARA CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS/FECAIS E <i>E. COLI</i> PELO MÉTODO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) EM AMOSTRAS DE LODO DE ESGOTO	77
FIGURA 3.15 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA PROPOSTO	79
FIGURA 3.16 - REATOR TERMOHIDROLISADOR (RT)	80
FIGURA 3.17 – VISTA INTERNA DA CAIXA TÉRMICA, COM DETALHES DO SISTEMA DE CONTROLE DE TEMPERATURA.....	81
FIGURA 3.18 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO FLUXO DO SISTEMA DE TRATAMENTO BIFÁSICO EMPREGADO.....	82
FIGURA 3.19 – APRESENTAÇÃO DO SISTEMA OPERACIONAL.....	83
FIGURA 3.20 – GEOMETRIA DOS REATORES UASB (RH E RM).....	84
FIGURA 3.21 – SISTEMA PARA MEDIÇÃO DE GÁS	86
FIGURA 3.22 – SISTEMA PARA A DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE METANOGENICA ESPECÍFICA	89
FIGURA 4.1 – RESULTADOS DA MÉDIA DE INATIVAÇÃO DE OVOS VIÁVEIS DE HELMINTOS COMPARADOS À ESPECIFICAÇÃO DA RESOLUÇÃO CONAMA Nº 375/06 PARA LODO CLASSE A	93
FIGURA 4.2 – TESTE DE TUCKEY PARA COMBINAÇÃO DE TEMPO <i>VERSUS</i> TEMPERATURA PARA OVOS DE ANCILOSTOMÍDEOS	94
FIGURA 4.3 – PESOS PARA AS AMOSTRAS DE LODO BRUTO E HIDROLISADO TERMICAMENTE	95
FIGURA 4.4 – ESCORES PARA AS AMOSTRAS DE LODO BRUTO E HIDROLISADO ESTUDADAS.....	96
FIGURA 4.5 – <i>ISISPORA</i> SP, OBSERVADO E DE REFERÊNCIA	98
FIGURA 4.6 – OVO DO <i>ASCARIS</i> SP, OBSERVADO E DE REFERÊNCIA	99
FIGURA 4.7 – OVO DO <i>TRICHURIS</i> SP, OBSERVADO E REFERÊNCIA	100

FIGURA 4.8 – OVO DO <i>TAENIA</i> SP, OBSERVADO E REFERÊNCIA.....	100
FIGURA 4.9 – OVO DO ANCILOSTOMÍDEO E DE TARDÍGRADA, OBSERVADO E REFERÊNCIA.....	102
FIGURA 4.10 – ESTRATIFICAÇÃO DO MEIO NOS REATORES RH E RM	104
FIGURA 4.11 – VARIAÇÃO TEMPORAL DO PH E DA RELAÇÃO α EM FUNÇÃO À TAXA DE APLICAÇÃO DE SÓLIDOS NO REATOR RH.....	107
FIGURA 4.12 – AVALIAÇÃO TEMPORAL DA EFICIÊNCIA DA REMOÇÃO DA DQO EM REATOR HIDROLISADOR (RH)	110
FIGURA 4.13 – BALANÇO MATERIAL DE SÓLIDOS TOTAIS DO REATOR RH	111

LISTA DE QUADROS

QUADRO 2.1 – TEMPO DE SOBREVIVÊNCIA DOS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS SOB TRATAMENTO À TEMPERATURA DE 20 A 30°C	32
QUADRO 2.2 – DIRETRIZES MICROBIOLÓGICAS RECOMENDADAS PELA WHO PARA USO AGRÍCOLA (A) DE EFLUENTES DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO	36
QUADRO 2.3 – PRINCIPAIS PARASITAS, OVOS DE HELMINTOS E CISTOS DE PROTOZOÁRIOS ENCONTRADOS EM LODO E ESGOTO, HOSPEDEIROS NORMAIS E ACIDENTAIS, DOENÇAS CAUSADAS NESTES HOSPEDEIROS ..	39
QUADRO 2.4 - TEMPERATURA E TEMPO DE EXPOSIÇÃO PARA A ELIMINAÇÃO DE ALGUNS ORGANISMOS PRESENTES EM LODO DE ESGOTO	59
QUADRO 3.1 – COMPOSIÇÃO DA RELAÇÃO TEMPERATURA <i>VERSUS</i> TEMPO PARA A TERMOHIDRÓLISE	64
QUADRO 3.2 – VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS EMPREGADOS NO MONITORAMENTO EXPERIMENTAL	78

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 – ORIGEM E DESTRUIÇÃO DOS PRINCIPAIS TIPOS DE LODOS GERADOS NO TRATAMENTO DE ESGOTO	26
TABELA 2.2 – CLASSE DE LODO DE ESGOTO DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CONAMA Nº 375/06	29
TABELA 2.3 – CONCENTRAÇÃO LIMITE PARA METAIS PESADOS EM BIOSSÓLIDOS DOS ESTADOS UNIDOS, BRASIL E MÉXICO	29
TABELA 2.4 – CRITÉRIOS PARA CARACTERIZAÇÃO DO LODO DE ESGOTO	30
TABELA 2.5 – CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS ORGANISMOS PATOGÊNICOS	34
TABELA 2.6 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS OVOS DE HELMINTOS (CONTINUA)	44
TABELA 2.7 – FAIXAS DE TEMPERATURA PARA O DESENVOLVIMENTO ÓTIMO DAS BACTÉRIAS	55
TABELA 2.8 – REMOÇÃO DE PATÓGENOS COM TRATAMENTO TÉRMICO ...	60
TABELA 2.9 – DIFERENTES PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICOS PARA A DIGESTÃO ANAERÓBIA MESOFÍLICA (CONTINUAÇÃO).....	60
TABELA 3.1 – VALORES MÉDIOS DAS CONCENTRAÇÕES DO CONJUNTO DE SÓLIDOS PARA A MISTURA DO LODO DE ALIMENTAÇÃO	64
TABELA 1 - ÍNDICE DE NMP E LIMITES DE CONFIANÇA DE 95 % PARA COMBINAÇÕES DE RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS COM USO DE 5 PORÇÕES DE 10 ML	73
TABELA 2 - ÍNDICE DE NMP E LIMITES DE CONFIANÇA DE 95% PARA COMBINAÇÕES DE RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS COM USO DE 5 PORÇÕES DE 10 ML, 5 PORÇÕES DE 1 ML E 5 PORÇÕES DE 0,1 ML (CONTINUA)	74
TABELA 4.1 – PARÂMETROS ANALISADOS PARA LODO BRUTO E HIDROLISADOS	92
TABELA 4.2 – RESULTADOS DAS MÉDIAS DOS VALORES DO CONJUNTO DE SÓLIDOS	104
TABELA 4.3 – VALORES MÍNIMOS, MÁXIMOS E MÉDIOS DE ALCALINIDADE, RELAÇÃO α E PH NO REATOR RH	106
TABELA 4.4 – RESULTADOS MÉDIOS DOS VALORES DE DQO SOLÚVEL ...	108

TABELA 4.5 – VALORES PARA DQO SOLÚVEL NO REATOR RH	109
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

α	Relação alcalinidade a pH 5,75 / alcalinidade a pH 4,3
ABES	Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental
AIDIS	Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental
AME	Atividade Metanogênica Específica
APHA	American Public Health Association
ASD	Áreas Susceptíveis à Desertificação
C ₂ H ₅ OH	Álcool etílico
CBA	Coordinación de Bioprocesos Ambientales
CEMAT	Centro para Estudios Mesoamericanos em Tecnologia Apropriada
CFR	Code of Federal Regulations
CG1	Coluna de gás 1
CG1-1 ^a	Primeira coluna de gás
CG2	Coluna de gás 2
CG1-2 ^a	Segunda coluna de gás
CH ₄	Metano
CO	Carga Orgânica
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CONAMA Chile	Comisión Nacional del Medio Ambiente
CSTR	Reator contínuo completamente misturado
ρ	Densidade
DAFA	Digestor Anaeróbio de Fluxo Ascendente
DQO	Demanda Química de Oxigênio
E	Entrada
EC	Caldo <i>E. coli</i>

EIA	Escuela de Ingeniería de Antioquia
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
F_c	Fator de conversão
FINEP	Financiadora de Estudos e Projetos
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
KH_2PO_4	Fosfato de potássio
L	Lodo de descarte
LABEAM	Laboratório de Engenharia Ambiental Professor Francisco Borsari Netto
LTS	Lauril Sulfato Triptose
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Cloreto de magnésio hexahidratado
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
NaOH	Hidróxido de sódio
NMP/100 mL	Número Mais Provável por 100 mililitros
NMP/gST	Número Mais Provável por grama de Sólidos Totais
NOM	Norma Oficial Mexicana
OH	Ovos de Helminthos
OMS	Organização Mundial da Saúde
PROSAB	Programa de Pesquisa em Saneamento Básico
Q	Vazão
RH	Reator Hidrolisador
RM	Reator Metanogênico
RT	Reator Termohidrolisador
S1	Saída 1
S2	Saída 2
S3	Saída 3
SANEPAR	Companhia de Saneamento do Paraná
SSF	Sólidos Suspensos Fixos

SST	Sólidos Suspensos Totais
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
STF	Sólidos Totais Fixos
STT	Sólidos Totais Totais
STV	Sólidos Totais Voláteis
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
TRH	Tempo de Retenção Hidráulico
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket
UFF	Unidade Formadora de Floco
UFP	Unidade Formadora de Placa
UFPR	Universidade Federal do Paraná
USEPA	United States Environmental Protection Agency
UNAM	Universidad Nacional Autonoma de México
UP	Universidade Positivo
VB	Caldo Verde Brilhante Bile
WEF	Water Environment Federation
WHO	World Health Organization
WWTP	Wastewater Treatment Plant
XLD	Ágar Xilose-Lisina Desoxicolato
ZnSO ₄	Sulfato de zinco
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de zinco heptahidratado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
OBJETIVOS.....	24
1.1 OBJETIVO GERAL	24
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	25
2.1 LODOS BIOLÓGICOS	25
2.2 LEGISLAÇÃO SOBRE BIOSSÓLIDOS	27
2.3 MICROBIOTA PRESENTE NO LODO DE ESGOTO DOMÉSTICO	31
2.3.1 Aspectos sanitários do lodo de esgoto doméstico.....	31
2.3.2 Uso de efluentes tratados de ETEs na irrigação de culturas agrícolas e florestais.....	36
2.3.3 Classificação dos parasitas intestinais e seus principais sintomas	38
2.3.4 Morfologia e características dos principais ovos de helmintos	39
2.3.5 Principais técnicas utilizadas para a identificação e quantificação dos ovos de helmintos	47
2.3.6 Organismos que podem interferir na contagem de ovos de helmintos.....	50
2.4 FUNDAMENTOS DA DIGESTÃO ANAERÓBIA.....	52
2.4.1 Fatores interferentes no processo da digestão anaeróbia.....	55
2.5 DIGESTORES ANAERÓBIOS	56
2.5.1 Reatores UASB	57
2.6 PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DO LODO DE ESGOTO.....	58
2.7 PROCESSO DE DESINFECÇÃO E USO DO LODO	61
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3.1 DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES DE TRABALHO	63
3.1.1 Preparo da mistura de lodos	63
3.1.2 Condições para o tratamento térmico	64
3.2 PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PATÓGENOS	65
3.2.1 Método parasitológico	65
3.2.3 Métodos microbiológicos	71
3.3 VARIÁVEIS FÍSICOS, QUÍMICOS E BIOLÓGICOS	77
3.4 O EQUIPAMENTO	78
3.4.1 Localização da unidade.....	78

3.4.2 Descrição do equipamento.....	79
3.5 INOCULAÇÃO E ALIMENTAÇÃO DOS REATORES UASB	86
3.6 ATIVIDADE METANOGENICA ESPECÍFICA	89
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
4.1 PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DO LODO MISTO.....	91
4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO	93
4.3 ANÁLISE PARASITOLÓGICA APÓS O TRATAMENTO TÉRMICO	96
4.4 ANÁLISE DOS PROCEDIMENTOS PARASITOLÓGICOS PARA LODOS DE ESGOTO	97
4.4.1 Leitura dos ovos de helmintos em câmara de Sedgwick-Rafter.....	98
4.4.2 Falso positivo na leitura de ovos de helmintos	101
4.5 REATORES DO PROCESSO BIFÁSICO	103
4.5.1 Conjunto de sólidos	103
4.5.2 Alcalinidade e pH	105
4.5.3 Redução da concentração de matéria orgânica e produção de biogás.....	107
4.5.4 Atividade metanogênica específica	110
4.5.5 Balanço material dos reatores UASB	111
5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	112
REFERÊNCIAS.....	113
ANEXOS	127

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, em geral, a disposição final de lodo de esgoto é realizada em aterro sanitário. Esta operação resulta no encarecimento dos custos operacionais de uma ETE, devido ao transporte deste resíduo ao aterro, o que agrava o problema de gerenciamento dos resíduos sólidos urbanos. Em países da Europa e da América do Norte, o lodo é comumente conduzido à incineração, depositado em aterros sanitários ou utilizados em áreas agrícolas, dependendo das suas características (FERNANDES e SILVA, 1996; BERTON e CEOLATO, 2009; PIRES, 2009).

Visando assegurar disposição adequada, vários países possuem normas que regulamentam a disposição final do lodo. A aplicação dos biossólidos na agricultura apresenta-se como uma alternativa viável, no ponto de vista ambiental, além de promover a reciclagem de matéria orgânica e nutrientes.

O tratamento do esgoto sanitário coletado no Paraná é, predominantemente, realizado em estações de tratamento, que utilizam reatores anaeróbios de manto de lodo. Estes reatores são unidades compactas, atingem níveis de redução de 70% da demanda bioquímica de oxigênio, com custo operacional até 80% menor que os sistemas convencionais de tratamento por sistema de lodos ativados (NOYOLA *et al.*, 2007).

A digestão anaeróbia é um dos métodos mais antigos, utilizados para tratamento biológico de resíduos, apresenta alto grau de eficiência no tratamento de esgotos sanitários e industriais, resultando na produção de menor quantidade de sólidos no lodo final, quando comparado aos processos aeróbios, além de gerar biogás, fonte de energia e renovável.

O processo anaeróbio tem sido utilizado para o tratamento de resíduos líquidos industriais e domésticos e, também, para a higienização do lodo de estações de tratamento de esgoto, buscando, principalmente, a eliminação de microrganismos patogênicos representados por bactérias, vírus e protozoários, além de parasitas intestinais e seus ovos, que apresentam riscos à saúde pública.

O esgoto sanitário e o lodo de esgoto doméstico contêm microrganismos patogênicos, que refletem de maneira direta o estado de saúde da população, assim, para a higienização do lodo faz-se necessária a implementação de técnicas

que eliminem ou diminuam sensivelmente a presença de patógenos.

A higienização tem como principal objetivo reduzir ou eliminar a densidade de microrganismos patogênicos, contribuindo como uma ferramenta para o seu manuseio e disposição final. Entretanto, no Brasil, até 2006, não existia qualquer especificação para a qualidade do lodo de estação de tratamento de esgoto para este fim.

Portanto, visando definir as exigências relativas ao uso agrícola de lodo de estações de tratamento de esgoto, em 2006 foi publicada a Resolução CONAMA nº 375. Esta resolução foi um marco na legislação ambiental brasileira, pois estabeleceram critérios, procedimentos e limitações para o uso agrícola de lodos gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário. Esta resolução estabelece exigências ao considerar que, os lodos de esgoto são resíduos que podem conter substâncias tóxicas, organismos patogênicos e estar relacionados à proliferação de vetores de doenças que podem causar danos à saúde pública e ao meio ambiente.

No Paraná, uma prática adotada pela SANEPAR para a higienização do lodo de esgoto para aplicação na agricultura tem sido a estabilização alcalina, com a utilização de cal seguida de um período de estocagem/maturação em pH elevado, o que reduz o número de patógenos mais resistentes a alterações ambientais.

Como característica mais recente para o tratamento de lodos de esgoto, uma etapa de pré-tratamento térmico tem sido utilizada. O aquecimento provoca o rompimento das ligações químicas de substâncias poliméricas em solução e da parede celular dos microrganismos e parasitas presentes, o que possibilita maior solubilização das partículas orgânicas, eliminação ou diminuição dos microrganismos patogênicos e melhor desempenho da digestão anaeróbia do lodo. Portanto, a termohidrólise é uma técnica eficaz, realizada por meio da combinação entre tempo e temperatura de exposição.

Assim, em função da tendência atual, de garantir a higienização do lodo de esgoto, para a aplicação na agricultura, o desenvolvimento desta pesquisa justifica-se pela importância da produção de resultados para o saneamento ambiental, pois propõe uma alternativa de tratamento visando a eliminação de microrganismos termotolerantes e de ovos de helmintos em processo bifásico em reatores UASB com pré-tratamento térmico. Esta proposta visa o desenvolvimento de uma

alternativa tecnológica para o tratamento do lodo de esgoto na própria estação, o que poderia acarretar menor custo para a disposição final e garantir biossólidos com características que satisfaçam a Resolução CONAMA nº 375/06 para lodos classe A, com a finalidade de aplicação na agricultura, além de proporcionar uma fonte alternativa de energia.

OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a higienização e a digestão de lodo de estação de tratamento de esgotos por meio de processo bifásico com pré-tratamento térmico.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir o objetivo geral deste estudo, as seguintes atividades foram especificadas:

- determinar as condições experimentais mais adequadas para a implementação do método de Yanko modificado para a contagem de ovos viáveis de helmintos em lodos de esgotos;
- determinar a relação de temperatura *versus* tempo mais adequada para higienizar lodo misto de lodos ativados, visando enquadramento à Resolução CONAMA nº 375/06;
- avaliar a estabilização de sólidos voláteis e a eficiência do reator UASB em relação à produção de metano a partir da fração solúvel de matéria orgânica do tratamento do efluente líquido do reator de hidrólise.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O lodo de esgoto é um subproduto do processo de tratamento de água consumida. A produção gerada deste resíduo agrava-se proporcionalmente ao crescimento populacional e urbano (ANDREOLI *et al.*, 1997; BETTIOL e CAMARGO, 2000; BEJAR e CHERNICHARO, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2006; SALVADOR, 2006; MAYA *et al.*, 2008; TORRES *et al.*, 2009). Com o aumento da produção de lodo, necessita-se expandir a estação de tratamento de esgoto para adequação do tratamento do resíduo (BETTIOL e CAMARGO, 2000; BEJAR e CHERNICHARO, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2006).

Uma alternativa para a disposição do lodo é a sua utilização na agricultura, como adubo orgânico (BARROS *et al.*, 2006; ZAPPAROLI *et al.*, 2007). A adubação de culturas agrícolas e florestais com lodo de esgoto ocorre em vários países (ALMEIDA *et al.*, 2006), como Reino Unido com 42% dos bio sólidos reciclados para a agricultura (BLACK, 1998), Estados Unidos com 60% (EPA, 1999), e Dinamarca com 70% (DEBOSZ *et al.*, 2002).

2.1 LODOS BIOLÓGICOS

O termo “lodo” tem sido mundialmente utilizado para designar os subprodutos sólidos dos processos de tratamento de efluentes. Nos processos biológicos de tratamento, o lodo secundário tem sido empregado como subproduto formado. No entanto, o termo bio sólidos tem sido utilizado para a valorização destes lodos, que são formados principalmente de matéria orgânica e apresentam grande potencial de uso produtivo, como na agricultura, quando corretamente tratado (VON SPERLING, 2005; MESSIAS *et al.*, 2007).

“Bio sólidos” tem sido outra terminologia utilizada para denominar lodos de esgoto, tratados ou processados, com características que permitam sua reciclagem de modo seguro e ambientalmente correto (FERNANDES e SILVA, 1996; PIRES, 2009).

O lodo de esgoto ou lodo bruto é constituído por fezes, urina, águas servidas para lavagens de pisos, roupas, utensílios de cozinha, entre outros, são denominados esgoto sanitário (AISSE, 2002), por outro lado, também pode ser considerado como um resíduo rico em matéria orgânica, gerado durante o tratamento das águas residuárias nas estações de tratamento de esgotos (ETEs).

Nas etapas de tratamento de esgotos domésticos são gerados resíduos sólidos, classificados como grosseiros. Os resíduos grosseiros são aqueles retirados no processo de gradeamento e na desarenação. Os lodos primário e secundário, ou biológico, são aqueles resultantes das operações de sedimentação primária e tratamento biológico, respectivamente. O lodo biológico compreende a biomassa de microrganismos aeróbios gerada na remoção da matéria orgânica dos esgotos e, por razões sanitárias e possíveis impactos ambientais deve receber destinação final segura e adequada. Em ETEs, dependendo do processo de tratamento, pode ser gerado lodo secundário anaeróbio estabilizado (VON SPERLING e GONÇALVES, 2001; CASSINI *et al.*, 2003; VON SPERLING, 2005).

A Tabela 2.1 apresenta uma descrição sucinta dos principais tipos de lodo e sua origem durante o tratamento de esgotos.

TABELA 2.1 – ORIGEM E DESTRUIÇÃO DOS PRINCIPAIS TIPOS DE LODOS GERADOS NO TRATAMENTO DE ESGOTO

Lodo	Origem	Descrição
Lodo primário	tanque séptico; decantador primário	proveniente da decantação primária, geralmente apresentam cor cinza e exalam forte odor. O lodo primário pode ser digerido sob condições adequadas de operação.
Lodo biológico aeróbio (não estabilizado)	lodos ativados convencional; reatores aeróbios com biofilme – alta taxa	Neste caso, o lodo apresenta-se em forma de aglomerados de cor marrom. São compostos basicamente por biomassa e ainda não estão estabilizados devido ao constante crescimento de microrganismos em virtude da entrada contínua de matéria orgânica. Necessitam, portanto, de uma etapa de estabilização antes da disposição final.
Lodo biológico aeróbio (estabilizado)	lodos ativados – aeração prolongada; reatores aeróbios com biofilme – baixa taxa	Este lodo apresenta aspecto granular e cor marrom, sem odor forte. É composto basicamente por microrganismos que se encontram em condições de respiração endógena devido à carga orgânica mais baixa ou ao maior tempo de retenção da biomassa nos reatores.
Lodo biológico anaeróbio (estabilizado)	lagoas de estabilização; reatores anaeróbios	Este lodo apresenta cor marrom escura ou preta, odor característico e grande quantidade de gás. Nos processos de tratamento anaeróbio a biomassa fica retida um longo tempo, no qual ocorre a digestão anaeróbia do próprio material celular. Nas lagoas de estabilização, o lodo é constituído ainda de sólidos do esgoto bruto sedimentados, bem como de algas mortas.
Lodo químico	decantador primário com precipitação química; sistemas com precipitação química de fósforo	Este lodo é usualmente resultante da precipitação química com sais metálicos ou com cal. A preocupação com odores é menor do que em relação ao lodo primário. A taxa de decomposição do lodo químico nos tanques é menor do que a do lodo primário.

FONTE: von Sperling e Gonçalves (2001); Metcalf e Eddy (2003); von Sperling (2005)

Na estação de tratamento de esgotos, o lodo é o principal subproduto sólido, em razão dos maiores volumes e massas produzidas (VON SPERLING e GONÇALVES, 2001; CASSINI *et al.*, 2003; VON SPERLING, 2005; TAKEMOTO, 2006), sendo que um dos problemas mais complexos na área de tratamento de resíduos é seu processamento e disposição final (BARJENBUCH e KOPFLOW, 2003; KIM *et al.*, 2003; METCALF e EDDY, 2003; VON SPERLING, 2005).

Em função das características de patogenicidade associadas aos lodos de esgoto, destino final adequado dos bioossólidos é um fator fundamental para o sucesso de um sistema de tratamento (TAKEMOTO, 2006). Assim, as especificações legais para a utilização dos bioossólidos na agricultura são de fundamental importância.

2.2 LEGISLAÇÃO SOBRE BIOSSÓLIDOS

O crescimento populacional nos grandes centros urbanos gerou um aumento na coleta de esgoto, na produção de resíduos (CARRIJO e BIONDI, 2008) e, como consequência, um aumento do número de ETEs. Uma das alternativas para disposição do lodo gerado nas ETEs é a sua aplicação na agricultura. Assim, em função da necessidade de práticas de gestão ambientalmente adequadas e eficientes é fundamental que este material seja tratado corretamente e higienizado para reduzir a quantidade de microrganismos patogênicos a níveis aceitáveis. Esta operação pode ser realizada por meio de mecanismos químicos, físicos ou biológicos, combinados ou isoladamente (BEJAR e CHERNICHARO, 2005).

O uso do lodo de esgoto em cada país tem um papel essencial no reaproveitamento, destino final e no estabelecimento de políticas sustentáveis. Em relação à concepção de sustentabilidade, as políticas públicas devem privilegiar as diversas maneiras de reaproveitamento com garantia de segurança sanitária e ambiental (SILVA, 2008).

Nas últimas décadas, vários países estabeleceram normas, critérios e procedimentos que especificam as condições adequadas para o uso do lodo de esgoto para a sua disposição final na agricultura.

Nos Estados Unidos, a preocupação com o lançamento do produto final do processo de tratamento biológico de esgoto sanitário no meio ambiente, que não constitua risco ambiental ou à saúde pública, resultou na Norma parte 503 para a regulamentação do tratamento e disposição final dos bioossólidos (USEPA, 1993).

Visando atualizar as alternativas de estabilização, higienização e destinação final do lodo de esgoto, estabelecendo maior proteção ao meio ambiente e à saúde pública, em julho de 2003 foram realizadas algumas modificações nesta norma, tendo sido publicada a Norma 40 CFR parte 503 (USEPA, 2003), que estabelece um procedimento de manejo de lodo e bio sólidos, fixando limites para metais pesados, qualidade microbiológica e atrativa de vetores, recomendando tratamento para a estabilização deste material. Em países como México, Brasil, Chile e Argentina também existem regulamentação para o uso e disposição de bio sólidos, com características similares às da Norma Americana.

A maioria das Normas classifica os bio sólidos como classes A e B, com exceção da Norma Mexicana, que apresenta uma terceira classe, a classe C, e a norma Chilena, que especifica padrões e critérios apenas para a classe A.

No Brasil, a utilização do lodo de esgoto e de seus produtos derivados é especificada pelas Resoluções CONAMA nº 375/06 e 380/06 (CONAMA, 2006a; 2006b). Para a redução de atratividade de vetores pelo lodo de esgoto, a Resolução CONAMA nº 380/06 Anexo I estabeleceu o tratamento do lodo de esgoto por digestão anaeróbia e aeróbia, compostagem, estabilização química, secagem, aplicação superficial e incorporação no solo, além de critérios para cada tipo de tratamento.

A Resolução CONAMA nº 375/06 é similar à Norma Americana 40 CFR parte 503 (USEPA, 1993) e estabelece padrões para bio sólidos classes A e B. Para que um lodo seja classificado como A, o tratamento proposto deve reduzir os microrganismos patogênicos ao limite especificado pelo Artigo 11 (CONAMA, 2006a), conforme apresentado na Tabela 2.2.

Em relação à mesma Resolução (CONAMA, 2006a), o Artigo 1º especifica que os bio sólidos ou produtos derivados de lodo de esgoto com metais pesados em concentração superior ao especificado, não são aceitáveis para aplicação agrícola. A Tabela 2.3 apresenta as concentrações limite para metais pesados em bio sólidos de diferentes países.

TABELA 2.2 – CLASSE DE LODO DE ESGOTO DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CONAMA nº 375/06

Classe A	Classe B
Coliformes Termotolerantes <10 ³ NMP/g de Sólidos Totais	Coliformes Termotolerantes <10 ⁶ NMP/g de Sólidos Totais
Ovos viáveis de helmintos < 0,25 ovos/g de Sólidos Totais	Ovos viáveis de helmintos < 10 ovos/g de Sólidos Totais
<i>Salmonella</i> ausência em 10 g de Sólidos Totais	-
Vírus < 0,25 Unidade Formadora de Foco (UFF) ou Unidade Formadora de Placa (UFP)	-

FONTE: Resolução CONAMA nº 375/06 (2006a), Resolução CONAMA nº 380/06 (2006b)

TABELA 2.3 – CONCENTRAÇÃO LIMITE PARA METAIS PESADOS EM BIOSSÓLIDOS DOS ESTADOS UNIDOS, BRASIL E MÉXICO

Metal pesado (mg/KgST)	EUA ⁽¹⁾	Brasil ⁽²⁾	México ⁽³⁾	
			Excelente	Bom
Arsênio	75	41	41	75
Bário	NE	1300	NE	NE
Cádmio	85	39	39	85
Chumbo	840	300	300	840
Cobre	4300	1500	1500	4300
Cromo	NE	1000	1200	3000
Merúrio	57	17	17	57
Molibdênio	75	50	NE	NE
Níquel	420	420	420	420
Selênio	100	100	NE	NE
Zinco	2800	2800	2800	7500

Legenda: (1) USEPA (1993); (2) CONAMA (2006a); (3) NOM-004-SEMARNAT-2002; NE: Não Especificado.

O artigo nº 12 (CONAMA, 2006a), da Resolução CONAMA nº 375/06 proíbe a utilização do lodo de esgoto ou produtos derivados de qualquer classe em pastagens, cultivos de olerícolas, tubérculos e raízes, culturas inundadas e em culturas cujas partes comestíveis entrem em contato com o solo. Para a classe B, o uso do bio sólido é restrito ao cultivo de café, à silvicultura, à produção de fibras e óleos com a aplicação mecanizada em sulcos ou covas, devendo ser respeitadas as restrições previstas na resolução.

A Tabela 2.4 apresenta um resumo dos critérios e padrões estabelecidos para a classificação dos bio sólidos em alguns países como México, Estados Unidos,

Brasil, Chile, Argentina e Colômbia.

TABELA 2.4 – CRITÉRIOS PARA CARACTERIZAÇÃO DO LODO DE ESGOTO

Critério	México ⁽¹⁾	EUA ⁽²⁾	Brasil ⁽³⁾	Chile ⁽⁴⁾	Argentina ⁽⁵⁾	Colômbia ⁽⁶⁾
Coliformes Termotolerantes (NMP/gST)	Classe A: $< 1 \times 10^3$	Classe A: $< 1 \times 10^3$	Classe A: $< 1 \times 10^3$		Classe A: $< 1 \times 10^{3*}$	Classe A: $< 1 \times 10^3$
	Classe B: $< 1 \times 10^3$	Classe B: $< 2 \times 10^6$	Classe B: $< 2 \times 10^6$	Classe A: $< 1 \times 10^3$	Classe B: $< 2 \times 10^{6*}$	Classe B: $< 2 \times 10^6$
	Classe C: $< 2 \times 10^6$					
Ovos de helmintos (OH/gST)	Classe A: < 1		Classe A: $< 1/4$			
	Classe B: < 10	Classe A: $< 1/4$	Classe B: < 10	Classe A: $< 1/4$	NE	Classe A: $< 1/4$
	Classe C: < 35					
<i>Salmonella</i> sp. (NMP/gST)	Classe A: < 3					Classe A: Ausência
	Classe B: < 3	Classe A: $< 3/4$	Ausência em 10 g	Classe A: $< 3/4$	Classe A: $< 3/4$	Classe B: $< 1 \times 10^3$
	Classe C: < 300					
Vírus (UFP)	NE	Classe A: $< 1/4$	Classe A: $< 1/4$	NE	NE	NE

Legenda: (1) NOM-004 – SEMARNAT-2002; (2) Norma 40 CFR parte 503 (USEPA, 2003); (3) CONAMA (2006a), Resolução CONAMA nº 375/06; (4) CONAMA Chile (2000) – Mena (2008) – Decreto Supremo nº 123 (30/08/2006); (5) Resolução nº 97/01 (22/11/2001) – Mena (2008); (6) Proposta de Norma, versão abril/2009; NE: Não especificado, * Valores para *E. coli*

FONTE: Torres *et al.* (2009)

Para os lodos classe A, é especificado que os bio sólidos resultantes do tratamento podem ser aplicados sem restrições tanto na agricultura como no uso urbano para contato direto do público. Por outro lado, os lodos classe B correspondem àqueles bio sólidos cuja utilização deve ser considerada com restrições, isto é, ao uso urbano sem contato direto do público e cobertura de aterro sanitário. Por último, os lodos classe C, apresentados na norma mexicana, têm o uso restrito para aplicação em florestas ou melhoramento do solo (MAYA *et al.*, 2006; ARCE, 2009; TORRES *et al.*, 2009).

A inclusão dos metais bário e selênio e a redução dos limites para cromo, molibdênio, níquel e chumbo tornou as especificações da resolução brasileira mais rigorosa, sendo considerado um avanço quando comparada às especificações da Norma 40 CFR parte 503 dos Estados Unidos (USEPA, 2003), e Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT 2002 (MAYA *et al.*, 2006).

2.3 MICROBIOTA PRESENTE NO LODO DE ESGOTO DOMÉSTICO

2.3.1 Aspectos sanitários do lodo de esgoto doméstico

Como todo resíduo de origem animal, a qualidade do lodo reflete diretamente as condições de saúde pública, animal e ambiental.

O lodo de esgoto doméstico contém uma população de microrganismos patogênicos como, Enterovírus, *Salmonella* spp., coliformes fecais, *Entamoeba histolytica* (cistos), *Ascaris lumbricoides* (ovos), *Necator americanus* (larvas), *Ancylostoma duodenale* (larvas), *Taenia saginata* e *Trichuris trichiura* (ovos), conforme apresentado no Quadro 2.1. No entanto, a simples presença do agente infeccioso no lodo utilizado na agricultura, não implica, imediatamente, na transmissão de doenças, sendo, entretanto, característica de um risco potencial. O risco real de infecção de um indivíduo depende da combinação de uma série de fatores, entre os quais podem ser citados a resistência dos organismos patogênicos ao tratamento do esgoto e as condições ambientais; a patogenicidade; a suscetibilidade e grau de imunidade do hospedeiro; o grau de exposição humana aos focos de transmissão. Assim, para que um microrganismo patogênico, presente em um resíduo utilizado no meio agrícola, esteja associado ao desenvolvimento de doenças severas, é necessário resistir aos processos de tratamento de esgoto e sobreviver no meio ambiente (MAYA *et al.*, 2008).

Entretanto, avaliar os ovos de helmintos sob o aspecto quantitativo de sua presença nas águas residuárias não é suficiente. Por outro lado, sob o ponto de vista epidemiológico, o aspecto qualitativo relativo à viabilidade de um ovo de helminto é uma característica fundamental a ser analisada, uma vez que, no ciclo biológico dos principais parasitas, o ovo fértil contaminado é eliminado pelas fezes do hospedeiro. Se este ovo estiver na fase de desenvolvimento larval, não serão capazes de causar enfermidades. Entretanto, se ovo em fase larval for ingerido por um outro hospedeiro e eclodir no intestino delgado, portanto, liberando uma larva, o ciclo terá continuidade, até que o parasita atinja a fase adulta para produzir ovos novamente. Esta etapa do desenvolvimento embrionário do ovo de helminto geralmente ocorre no solo ou em cultivos agrícolas. No entanto, o ovo infectado pode permanecer no período latente durante anos, tornando-se viável em função de condições ambientais adequadas (GALVÁN e VICTORICA, 1998).

Microrganismos	Tempo de sobrevivência (dias)			
	Lodo	Água	Culturas	Solo
Vírus				
Enterovírus	100 – 20	120 – 50	60 – 15	100 - 20
Bactérias				
Coliformes fecais	90 – 50	60 – 30	30 – 15	70 - 30
<i>Salmonella</i> spp.	60 – 30	60 – 30	30 - 15	70 - 20
<i>Vibrio cholerae</i>	30 – 10	30 – 10	5 - 2	120 - 50
Protozoário				
<i>Entamoeba histolytica</i> (cistos)	30 – 15	30 – 15	10 - 2	20 - 10
Helmintos				
<i>Ascaris lumbricoides</i> (ovos)	Vários meses	Vários meses	60 - 30	6 meses – 7 anos
<i>Necator americanus</i> (lavas)	Vários meses	Vários meses	30 - 10	90 - 30
<i>Ancylostoma duodenale</i> (larvas)	Vários meses	Vários meses	30 - 10	90 - 30
<i>Taenia saginata</i> (ovos)	Vários meses	Vários meses	60 - 30	Vários meses
<i>Trichuris trichiura</i> (ovos)	Vários meses	Vários meses	60 - 30	Vários meses

FONTE: Feachem *et al.* (1983), Kowal (1985), Metcalf e Eddy (2003)

QUADRO 2.1 – TEMPO DE SOBREVIVÊNCIA DOS MICRORGANISMOS PATOGENICOS SOB TRATAMENTO À TEMPERATURA DE 20 A 30°C

Embora o conhecimento da tolerância dos microrganismos às condições ambientais não permita a caracterização de um risco real de transmissão de doenças, os valores apresentados no Quadro 2.1, são ferramentas de grande importância para avaliar os riscos potenciais de infecção (CHAGAS, 2000).

A variação do número de ovos dos gêneros encontrados no lodo de esgoto de ETEs, está relacionada à região geográfica de coleta, assim como, ao perfil socioeconômico dos habitantes relacionados às áreas de abrangência das ETEs (TSUTIYA, 2001a).

No Brasil, as parasitoses intestinais merecem destaque especial, pois ocupam um papel importante no cenário de doenças tropicais e produzem uma série de manifestações clínicas que podem levar à incapacidade ou ao óbito. A frequente incidência de parasitoses está diretamente relacionada às condições socioeconômicas do país (GASPARINI e PORTELLA, 2004; LEVINSON e JAWETZ, 2005).

Estimativas recentes sugerem que helmintos como o *Ascaris lumbricoides* infectam mais de 1 bilhão de pessoas; *Trichuris trichiura*, 795 milhões, e *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*, 740 milhões. O maior número de infecções por helmintos, presentes em solos contaminados, ocorrem na África

setentrional, nas Américas, China e leste asiático (OMS, 2008).

No México, Maya *et al.* (2002) relatam que os gêneros de helmintos mais frequentes em suas amostras de lodo de esgoto foram *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *Hymenolepis* sp., *Toxocara* sp., *Enterobius* sp. e *Taenia* sp. No Brasil, estudos revelam maior incidência dos parasitas *Ascaris* sp., *Trichuris* sp. e ancilostomídeos e os protozoários *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia* (JANEIRO *et al.*, 2002; SILVA, 2008).

O sucesso sanitário de um sistema de tratamento de esgoto e de lodo consiste na redução do nível de patogenicidade, sendo considerado o fator essencial para a limitação da persistência dos microrganismos patogênicos. No entanto, dependendo do ambiente em que se encontram os patógenos, o tempo de sobrevivência será diferente (SILVA, 2008).

A higienização do lodo de esgoto foi investigada por Noyola *et al.* (2007). Nesta pesquisa, o lodo misto (lodos primário e secundário) submetido a tratamento térmico sob a combinação de temperatura (65°C) e tempo de 60 minutos obteve higienização adequada, com 90% de remoção de ovos de helmintos viáveis. Entretanto, resultados obtidos por Arce (2009) mostraram que a combinação de temperatura de 70°C, aplicada durante 90 minutos é adequada para a inativação completa de ovos de helmintos e eliminação de coliformes fecais, *Salmonella* spp.

Segundo Soccol *et al.* (1997) e Maya *et al.* (2002), os helmintos são altamente resistentes no meio ambiente, podendo sobreviver de seis meses a sete anos no solo, como por exemplo, os ovos de *Ascaris lumbricoides*. Assim, a utilização do solo, para os mais variados fins, possibilita, portanto, a exposição do homem e de animais a agentes patogênicos nele presentes. De acordo com resultados de Maya *et al.* (2002), no México, os grupos de helmintos mais frequentes foram os nematóides, com 95,6% total estudado, os cestóides, com 4,4%, enquanto o gênero de maior frequência foi *Ascaris* sp, com 83 ovos ($\pm 21,4$), o que representou a capacidade de gerar 200.000 ovos em uma ovoposição. A menor frequência de cestóides se deve ao estágio larval, que pode imigrar para vários tecidos, como músculo ou cérebro, causando cisticercose.

Em função da alta resistência aos fatores ambientais e ao fato de sobreviver a diversos tipos de tratamento de esgoto e de lodo, os ovos de *Ascaris* sp são utilizados como indicadores parasitológicos da eficiência do tratamento do lodo (CARRINGTON, 2001; USEPA, 2003; METCALF e EDDY, 2003; WHO, 2004).

Com base nas características epidemiológicas dos principais grupos de microrganismos encontrados nos esgotos sanitários (Tabela 2.5), Shuval *et al.* (1986), elaboraram uma classificação para os microrganismos patogênicos em ordem decrescente, segundo sua capacidade de impor riscos sanitários:

- alto risco: helmintos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*);
- médio risco: bactérias (*Vibrio cholerae*, *Samonella typhi* e *Shigella* sp.) e protozoários (*Entamoeba hystolitica* e *Giardia lamblia*);
- baixo risco: vírus (Enterovírus e vírus da hepatite).

TABELA 2.5 – CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DOS ORGANISMOS PATOGENICOS

Agente Etiológico	Resistência ⁽¹⁾	Mínima dose infectante	Imunidade conferida para infecção	Modo de transmissão ⁽²⁾	Latência - estágio de desenvolvimento no solo ⁽³⁾
Vírus	Média	Baixa	Longa	Contaminação doméstica, água e alimentos contaminados	Não
Bactérias	Curta – Média	Média / Alta	Irrelevante Média	Contaminação doméstica, água e alimentos contaminados	Não
Protozoários	Curta	Baixa / Média	Inexistente limitada	Contaminação doméstica, água e alimentos contaminados	Não
Helmintos	Curta	Baixa	Inexistente limitada	Contaminação do solo, alimentos contaminados	Sim

FONTE: Shuval *et al.* (1986); Bastos e Mara (1993)

Notas:

(1) Sobrevivência no meio ambiente, tempo máximo previsto de vida na forma infectante;

(2) Focos de transmissão concorrentes com a utilização de esgotos para irrigação, geralmente determinados pelas condições sanitárias e sócio-econômicas, e pela higiene pessoal;

(3) Tempo mínimo típico entre a excreção e o desenvolvimento de forma infectante do microrganismo.

Os helmintos foram enquadrados com baixa dose infectante, porém longa sobrevivência no meio ambiente e imunidade significativa (ZERBINI, 2000). Em relação aos agentes infecciosos, os vírus são microrganismos de elevada taxa de replicação envolvidos na transmissão por vias em que prevaleçam baixas condições sanitárias e de higiene pessoal (WHO, 1989). Em relação às bactérias e protozoários, o tempo de sobrevivência no meio ambiente é bem menor do que o dos ovos de helmintos, porém, as doses infectantes, para ambos os grupos, são

consideradas bem maiores do que aquelas para protozoários (MAYA *et al.*, 2008).

Segundo Silva e Massara (2005), a educação em saúde para crianças é uma medida importante para o controle das helmintoses. Estas doenças durante a infância causam a alta prevalência, a alta porcentagem de resistência ao tratamento, as altas taxas de eliminação de ovos e os altos níveis de reinfecção. Todos estes fatores mostram que a criança tem uma importante contribuição na manutenção do ciclo biológico de helmintoses intestinais, por exemplo, o ciclo do *Ascaris* sp., que possui um ovo resistente. Algumas medidas fundamentais para que possa ocorrer o controle dessas doenças são:

- a educação em saúde pública;
- a construção de redes de esgotos, com tratamento e/ou fossa séptica;
- o tratamento de toda a população alvo com utilizada “drogas” anti-parasitárias, resguardando a cada tipo de parasitose, ocorrendo a repetição da medicação após o período de 7 dias, durante três anos consecutivos;
- a proteção dos alimentos contra insetos e poeira;
- o desenvolvimento de conhecimento específico sobre a transmissão do parasita, os sintomas e explicações sobre higiene pessoal.

Segundo Carrington (2001), as doenças mais severas decorrentes de ausência de saneamento básico adequado estão relacionadas ao sistema respiratório por ser esta via, comumente, a porta de entrada para os patógenos. Silva (2008) comenta que as bactérias entéricas são transmitidas por via oral-fecal, água e alimentos, salienta sobre a possibilidade de contaminação por meio da inalação das partículas contendo esses patógenos. Desta maneira, a infecção representa um alto risco aos indivíduos que trabalham diretamente com o lodo de esgoto.

No entanto, para garantir a proteção dos trabalhadores nas estações de tratamento de esgoto e da população, que, por sua vez, pode ter contato com o lodo tratado e pode utilizar em diversas aplicações, como, por exemplo, no uso agrícola, é essencial a avaliação da presença de ovos de helmintos e de outros indicadores microbiológicos (ZERBINI, 2000).

2.3.2 Uso de efluentes tratados de ETEs na irrigação de culturas agrícolas e florestais

A Organização Mundial de Saúde (WHO, 1989) recomenda para irrigação, o uso de efluentes de estação de tratamento de esgoto, reconhecendo dois tipos de organismos indicadores de sua qualidade microbiológica e da eficiência de remoção no tratamento: a concentração de coliformes fecais e o número de ovos de helmintos por unidade de volume. O Quadro 2.2 apresenta as recomendações para uso na agricultura de efluentes tratados.

		Condições de reuso	Grupo exposto	Nematóides intestinais (ovos/L) ^(b)	Coliformes Fecais (nº/100mL) ^(c)	Nível de tratamento esperado para alcançar a qualidade biológica requisitada
Categorias	A	Irrigação de vegetais consumidos crus, campos de esporte, parques públicos	Trabalhadores, consumidores, público	≤ 1	≤ 1000 ^(d)	Série de lagoas de estabilização projetada para se alcançar a qualidade biológica indicada ou tratamento equivalente
	B	Irrigação de culturas de cereais, culturas industriais, culturas forrageiras, pastagens e árvores ^(e)	Trabalhadores	≤ 1	Não se recomenda	Retenção em lagoas de estabilização por 8-10 dias ou remoção equivalente de helmintos e coliformes fecais
	C	Irrigação localizada de culturas na categoria “B” sem exposição de trabalhadores e público em geral	Nenhum	Não se explica	Não se explica	Pré-tratamento, de acordo com os requisitos das tecnologias de irrigação empregada, mas não inferior à sedimentação primária

QUADRO 2.2 – DIRETRIZES MICROBIOLÓGICAS RECOMENDADAS PELA WHO PARA USO AGRÍCOLA (a) DE EFLUENTES DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO

FONTE: Adaptado de OMS (WHO, 1989) e Hespanhol (1990)

Notas:

- (a) Em casos específicos, de acordo com os fatores ambientais, locais, epidemiológicos e socioculturais, devem ser consideradas modificações das recomendações;
- (b) Espécies dos nematóides *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*, média aritmética do número de ovos por litro;
- (c) Média geométrica do número de Coliformes Fecais (CF) por 100 mL, durante o período de irrigação;
- (d) recomendações mais rigorosas devem ser consideradas (≤ 200 CF/100mL) para gramados públicos, onde o público tem contato direto;
- (e) no caso de árvores frutíferas, a irrigação deve ser suspensa duas semanas antes da colheita, sem que sejam apanhadas do chão.

O conhecimento desenvolvido sobre a utilização agrícola de efluentes de ETE ainda não está completamente desenvolvido, o que está relacionado à necessidade de pesquisas e ações visando o reuso controlado, incluindo sua devida regulamentação. De acordo com Tsutiya (2001b), o reuso agrícola de lodos de esgoto apresenta-se como uma solução sanitariamente segura, economicamente viável e ambientalmente sustentável.

No Paraná, usualmente, a higienização do lodo é realizada por tratamento químico, que consiste na estabilização alcalina com a utilização de cal seguida de um período de estocagem/maturação em pH elevado, para a inviabilização dos patógenos mais resistentes às alterações ambientais (ANDREOLI *et al.*, 1997; SOCCOL *et al.*, 1997). No município de Maringá, Almeida *et al.* (2006) avaliaram o processo químico, por adição de cal virgem ao lodo, no leito de secagem, por um período de 60 dias, e o térmico, por meio de autoclavação, à temperatura de 121 °C, por 2 horas e concluíram que tanto o processo térmico como o químico foram eficientes para reduzir o número de patógenos presentes no lodo de esgoto. Para o processo químico, os resultados obtidos para coliforme termotolerantes foram de redução de $1,3 \times 10^7$ NMP/gMS (MS = massa seca) para $2,0 \times 10^2$ NMP/gMS e para a esterilização de $1,3 \times 10^7$ NMP/gMS até o limite de detecção do método, ou seja, menor do que 2. Estes resultados permitiram concluir que o tratamento térmico/esterilização enquadrou o resíduo nos critérios estabelecidos para o uso na agricultura. Neste mesmo estudo, os autores concluíram que utilizando apenas o processo anaeróbio, seguido por desaguamento em leitos de secagem, não era suficiente para redução dos patógenos presentes no lodo de esgoto, não sendo considerado seguro para o uso agrícola.

Outro estudo de Barros *et al.* (2002) propõe uma alternativa ao processo de estabilização alcalina, por meio da utilização dos ácidos orgânicos acético e peracético para redução de patógenos do lodo. Estes autores obtiveram como resultado do processo de acidificação, a inativação de, aproximadamente, 100% dos microorganismos coliformes totais e fecais, nas dosagens de 460 mg/L e 920 mg/L, de ácido peracético, e de 11.000 mg/L, de ácido acético, após um período de contato de 15 minutos, à temperatura ambiente. Para os ovos de helmintos, em presença de ácido peracético, a inativação foi de 88% para a dosagem de 920 mg/L; enquanto para o ácido acético foi de, aproximadamente, 66%, a 30 minutos de contato. Em relação ao tratamento alcalino, a eficiência da redução de

microorganismos coliformes totais e fecais também foi de 100%, entretanto, por um período de 10 dias. Os autores concluíram que a caleação não foi eficiente para a inativação de ovos de helmintos.

2.3.3 Classificação dos parasitas intestinais e seus principais sintomas

As parasitoses intestinais constituem grave problema médico e de saúde pública, especialmente na periferia dos grandes centros urbanos e nas zonas rurais do interior do país. A sistematização destes parasitas é de fundamental importância (GASPARINI e PORTELLA, 2004; LEVINSON e JAWETZ, 2005), pois caracterizam e identificam suas espécies, conforme a Figura 2.1.

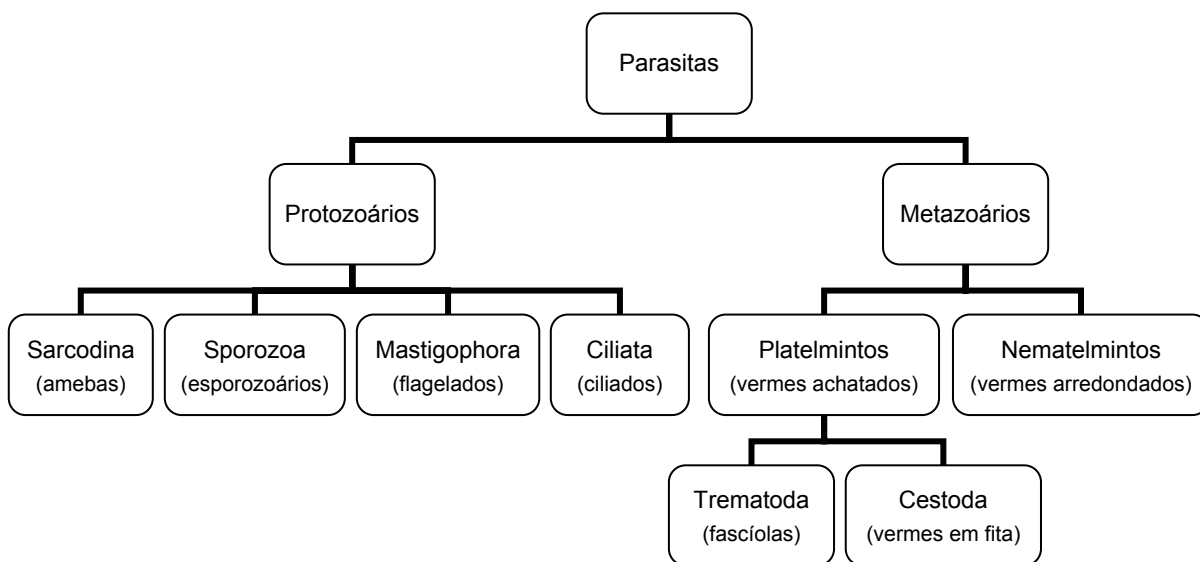


FIGURA 2.1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CLASSIFICAÇÃO DOS PARASITAS INTESTINAIS

FONTE: Levinson e Jawetz (2005)

As enteroparasitas são todos os protozoários e helmintos que parasitam o trato intestinal humano e de outros animais, e que são liberados no meio ambiente por meio das fezes dos indivíduos infectados (SILVEIRA, 2007).

O Quadro 2.3 apresenta os parasitas intestinais, com seu respectivo grupo, hospedeiro e principais sintomas.

Grupo	Parasito	Hospedeiro	Sintomas principais
Nematóides	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Homem	Distúrbios digestivos, vômito, dor abdominal
	<i>Ascaris suum</i>	Suíno	Distúrbios digestivos e nutricionais, emagrecimento, tosse, febre
	<i>Ancylostoma duodenale</i>	Homem	Anemia, emagrecimento
	<i>Necator americanus</i>	Homem	Anemia, emagrecimento
	<i>Toxocara canis</i>	Cães, Homem	Emagrecimento, diarreia, febre, desconforto abdominal, sintomas neurológicos (larva migrante visceral)
	<i>Trichostrongylus axei</i>	Bovinos, Equinos, Homem	Gastrite, úlcera gástrica
Cestóides	<i>Taenia solium</i>	Homem, Suínos	Distúrbios digestivos, insônia, anorexia, dor abdominal, Distúrbios nervosos, irritação, emagrecimento
	<i>Taenia saginata</i>	Homem, Bovinos	Distúrbios digestivos, insônia, anorexia, dor abdominal, emagrecimento
	<i>Hymenolepis nana</i>	Homem, Artrópodes	Diarreia, sinais nervosos
	<i>Echinococcus granulosus</i>	Cães, Ovinos, Homem	Distúrbios digestivos, hepáticos e pulmonares
Protozoários	<i>Entamoeba histolytica</i>	Homem	Enterite aguda
	<i>Giardia lamblia</i>	Homem, cães, gatos	Diarreia, perda de peso
	<i>Toxoplasma gondii</i>	Gatos, Homem, mamíferos e aves	Alterações do sistema nervoso, coriorretinite
	<i>Balantidium coli</i>	Homem, Suínos	Distúrbios digestivos
	<i>Cryptosporidium</i>	Homem, Bovinos	Gastroenterite

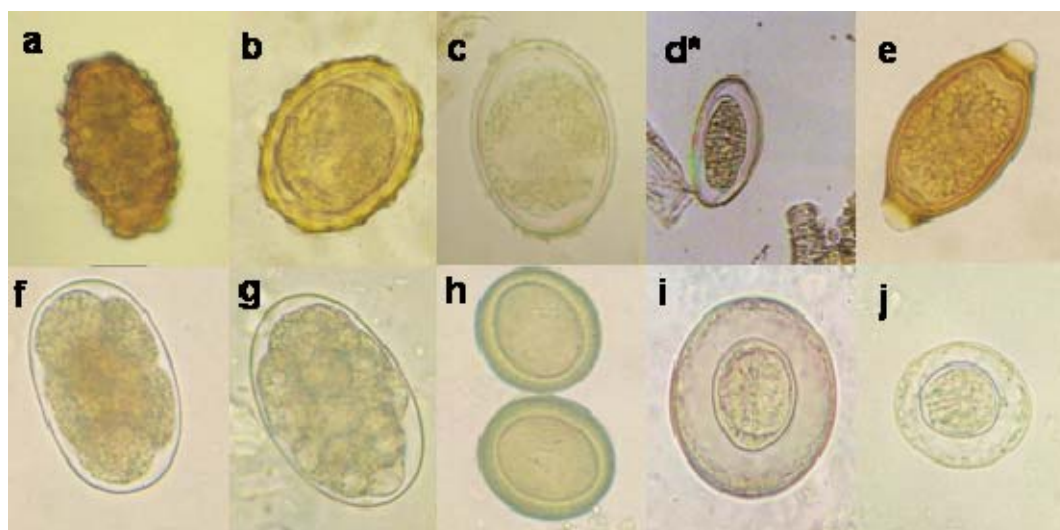
QUADRO 2.3 – PRINCIPAIS PARASITAS, OVOS DE HELMINTOS E CISTOS DE PROTOZOÁRIOS ENCONTRADOS EM LODO E ESGOTO, HOSPEDEIROS NORMAIS E ACIDENTAIS, DOENÇAS CAUSADAS NESTES HOSPEDEIROS

FONTE: Soccol e Paulino (2000)

Entre os helmintos apresentados no Quadro 2.3, a *Taenia solium* possui uma incidência maior na América Latina. Quando o homem ingere ovos deste parasita pode atuar como hospedeiro intermediário: a larva pode instalar-se no cérebro, nos olhos ou nos músculos (REY, 1991; NEVES, 2005).

2.3.4 Morfologia e características dos principais ovos de helmintos

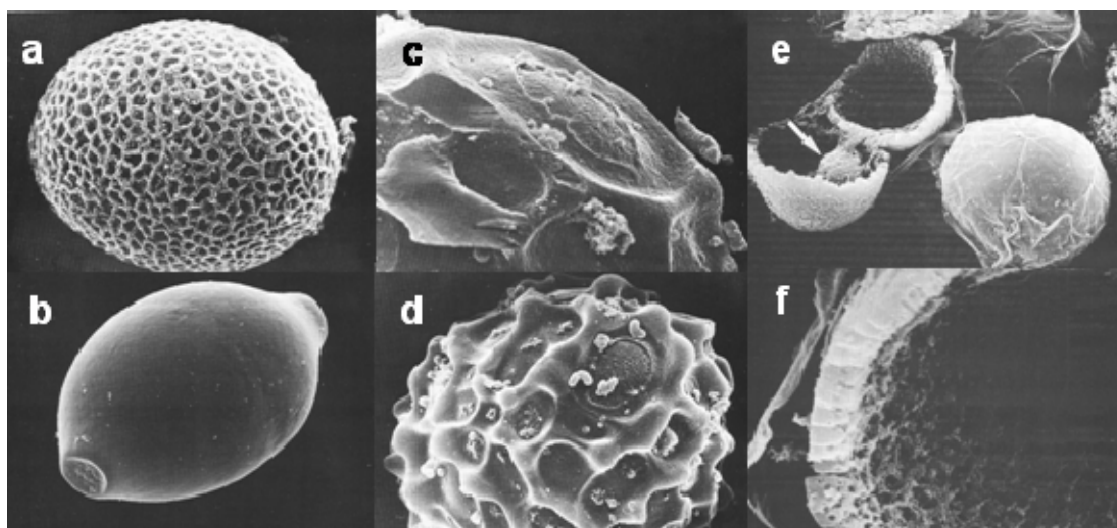
Helminto é um termo que se refere a um amplo grupo de parasitas que tem parte do seu ciclo em vida livre, com forma e tamanhos variados (Figuras 2.2 e 2.3).



Legenda: a) Ovo infértil de *Ascaris lumbricoides* (membrana mamilonada delgada); b) Ovo fértil de *A. lumbricoides* com membrana mamilonada; c) Ovo fértil de *A. lumbricoides* sem membrana mamilonada, chamado ovo descorticado; d)* Ovo de *Enterobius vermicularis*; e) Ovo de *Trichuris trichiura*; f) e g) Ovos férteis de Ancilostomídeos; h) Ovos de *Taenia* spp.; i) Ovo de *Hymenolepis diminuta*; j) Ovo de *Hymenolepis nana*.

FIGURA 2.2 – VÁRIOS OVOS DE HELMINTOS

FONTE: OMS (2007), d)* Cimerman e Franco (2005)

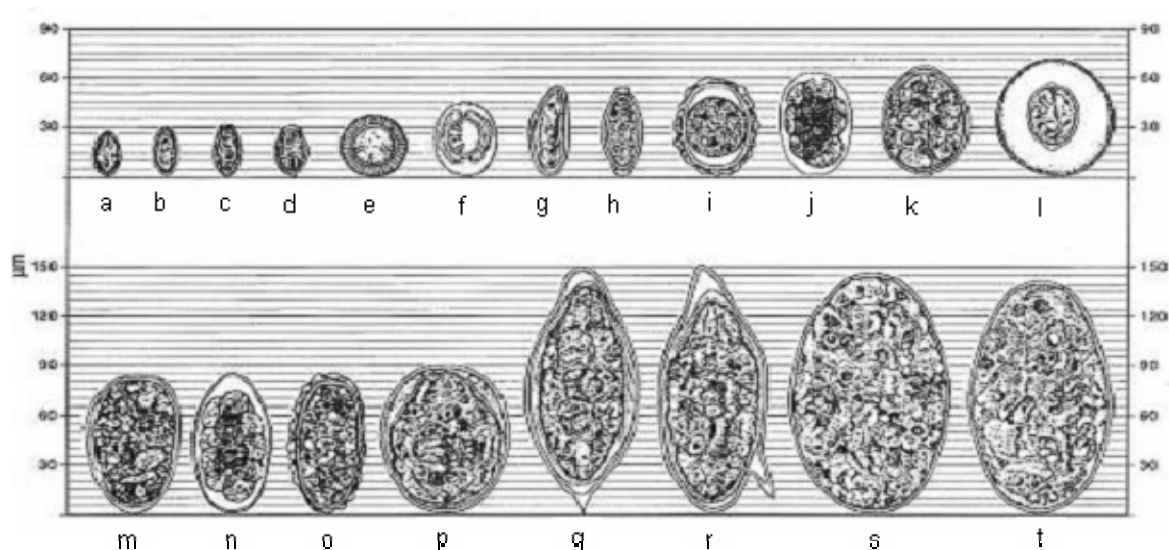


Legenda: Microscopia eletrônica de varredura a) Ovo de *Toxocara canis*, 2.000X; b) Ovo de *Trichuris trichiura*, 2.000X; c), d) Ovo de *Ascaris summa*, com 6.000X e 2.000X, respectivamente; e) Ovo de *Taenia saginata*, 2.000X, o ovo no ângulo inferior à direita, observa-se coberto por um camada; e f) ovo de *Taenia saginata*, 8.000X, observa-se blocos longitudinais.

FIGURA 2.3 – MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE ALGUNS OVOS DE HELMINTOS

FONTE: Zaman (1996)

Para a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1994), o tamanho relativo dos ovos de helmintos é sugerido conforme apresentado na Figura 2.4. Sendo essencial para a confirmação dos ovos identificados.

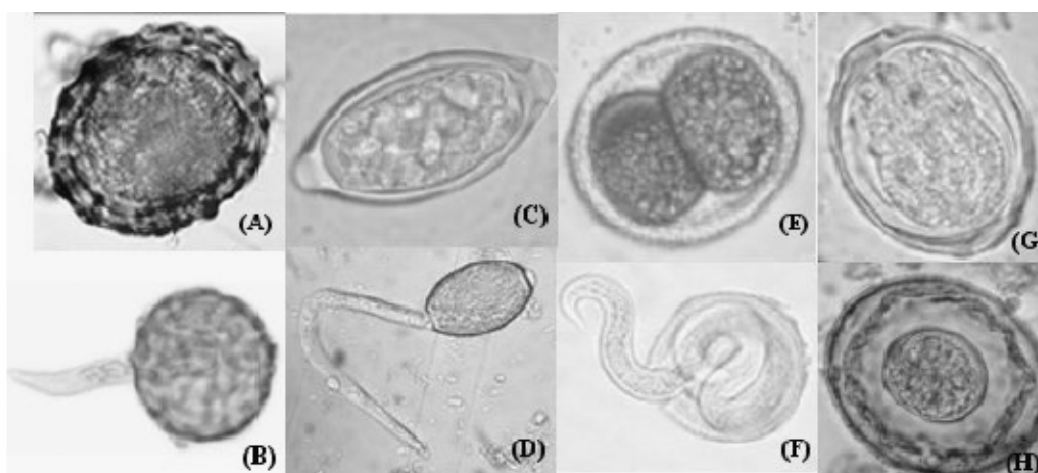


Legenda: a – *Metagenus yokogai*; b – *Heterophyes heterophyes*; c – *Opisthorchis felinus*; d – *Clonorchis sinensis*; e – *Taenia*; f – *Hymenolepis nana*; g – *Enterobius vermicularis*; h – *Trichuris trichiura*; i – *Ascaris lumbricoides*; j – *Ancilostomídeos*; k – *Diphylobothrium latum*; l – *Hymenolepis diminuta*; m – *Paragonimus westermani*; n – *Trichostrongylus*; o – *Ascaris lumbricoides* infértil; p – *Schistosoma japonicum*; q – *Schistosoma haematobium*; r – *Schistosoma mansoni*; s – *Fasciola hepática*; t – *Fasciolopsis buski*.

FIGURA 2.4 – TAMANHO RELATIVO DOS OVOS DE HELMINTOS

FONTE: WHO (1994)

De acordo com Maya *et al.* (2002), a Figura 2.5 apresenta a identificação de diferentes gêneros e os respectivos estágios de desenvolvimento larval, o que caracteriza uma prova de viabilidade dos ovos helmintos.



Legenda: ovo e desenvolvimento da larva de (A) e (B) *Ascaris* sp.; (C) e (D) *Trichuris* sp.; (E) e (F) *Toxocara* sp.; e o ovo, sem larva, de: (G) *Trichosomoides* sp. e (H) *Hymenolepis diminuta*.

FIGURA 2.5 – OVOS DE HELMINTOS E ESTÁGIO LARVAL

FONTE: Arquivo de imagens: Grupo de tratamento e reuso, Instituto de Ingeniería (UNAM), Maya *et al.* (2002)

A densidade de patógenos presentes no lodo de esgoto sanitário pode conter uma variedade de ovo de helmintos, proveniente das fezes humanas e de diversos

animais, como cachorros, gatos, porcos, ratos, e ovos de parasitos intestinais humanos. Portanto, identificar corretamente os ovos de helmintos em função das características de tamanho e morfologia são de fundamental importância para que a aplicação do lodo de esgoto na agricultura possa ser realizada de maneira segura, sem representar riscos ambientais ou de saúde pública (ZERBINI e CHERNICHARO, 2001).

Por um lado, se a determinação da morfologia dos ovos de helmintos é uma ferramenta que auxilia na identificação da presença e quantificação das espécies de parasitas, a determinação da viabilidade dos ovos está associada à segurança para a utilização do lodo, pois cada espécie apresenta um ciclo biológico. Por exemplo, para a determinação da viabilidade de ovos de *Ascaris* sp., os critérios básicos estão relacionados a alterações morfológicas como, por exemplo: presença de estruturas intactas, com membranas contínuas e simétricas; observação de período de desenvolvimento embrionário sucessivo, como células duplas, mórula, gástrula e larva, com indicação da diferenciação para cada estágio. Por outro lado, os ovos não-viáveis apresentam estruturas mal definidas, no estágio unicelular com vacuolização e granulação no citoplasma, e ruptura sem continuidade da membrana JIMÉNEZ (sd).

Uma descrição do estágio de desenvolvimento dos ovos de *A. lumbricoides* é apresentada por Zerbini e Chernicharo (2001). No primeiro estágio, a célula é facilmente identificada, possui uma única célula grande, ocupando a maior parte do ovo. No estágio de mórula precoce, o embrião, no interior do ovo, divide-se de 2 a 16 células, denominado mórula tardia, etapa em que ocorre uma rápida clivagem, os blastômeros não são bem definidos e o embrião é denominado blástula, tornando-se uma esfera compacta de pequenas células. A blástula é o início da morfogênese e o término da proliferação. O estágio de gástrula, o embrião alonga-se e curva-se ventralmente, desenvolvendo o formato de um grão de feijão. A partir do estágio inicial, ou vermiforme, até o de larva completa, a larva continua alongando e movimenta-se livremente no interior do ovo, sendo que as extremidades anterior e posterior são distintas. Nesse período, a larva é diferenciada morfologicamente e permanece nesse estágio até ocorrer o estímulo adequado à eclosão. Esta sequência é apresentada na Figura 2.6.



Legenda: 1 – Estágio de uma célula; 2 – Estágio de mórula precoce; 3 – Estágio de mórula tardia; 4 – Estágio de gástrula; 5 e 6 – Eclosão do ovo, saindo a larva.

FIGURA 2.6 – DESENVOLVIMENTO DA LARVA DO OVO DE *Ascaris lumbricoides*

FONTE: Jiménez (sd)

(*) sem data

A Tabela 2.6 apresenta uma síntese das principais características dos ovos de helmintos mais freqüentes encontrados em laboratório, com o intuito de detectar e identificar os parasitas.

TABELA 2.6 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS OVOS DE HELMINTOS (CONTINUA)

Helminto	Tamanho (µm) (comp. x larg)	Principais Características (1), (2), (8), (9)	Densidade	Velocidade de Sedimentação (m/h)	Referência
<i>Ascaris lumbricoides</i> (fértil)	55 a 75 x 35 a 50 ^{(1),(3), (4), (5), (7), (9)} 80 a 90 x 30 a 40 ⁽²⁾	<ul style="list-style-type: none"> • forma: esférica ou oval • cor: castanho-amarelada • possui membrana mamilonada, corticado (alguns ovos podem apresentar-se sem essa membrana – ovo descorticado) • casca espessa 	1,11 ^{(3), (4)}	0,43 ^{(3), (4)}	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽²⁾ Jimenez (sd) ⁽³⁾ WHO (2004) ⁽⁴⁾ Zerbini e Chernicharo (2001) ⁽⁵⁾ WHO (2005) ⁽⁷⁾ OMS (2007) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005) ⁽⁹⁾ Silva e Massara (2005)
<i>Ascaris lumbricoides</i> (infértil)	85 a 95 x 43 a 47 ^{(1), (2)}	<ul style="list-style-type: none"> • forma: alongada, elíptico • membrana mamilonada delgada, corticado • no interior do ovo notam-se grânulos grosseiros, mostrando que o ovo não foi fecundado. Essas granulações caracterizam o ovo infértil. 	NE	NE	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)
<i>Ascaris summ</i>	65 x 45 ⁽⁴⁾	<ul style="list-style-type: none"> • forma: esférica ou oval • cor: castanho-amarelada • possui membrana mamilonada (alguns ovos podem apresentar-se sem essa membrana – ovo descorticado) • casca espessa 	1,13 ⁽⁴⁾	0,95 ⁽⁴⁾	⁽⁴⁾ Zerbini e Chernicharo (2001) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)
<i>Trichuris trichiura</i>	<i>Trichuris</i> spp.: 50 a 54 x 22 a 23 ⁽²⁾ <i>Trichuris trichiura</i> : 50 a 55 x 22 a 24 ^{(1), (4), (6), (7)}	<ul style="list-style-type: none"> • forma: aspecto típico de um pequeno barril • cor: castanho • possui dois tampões polares • possui duas membranas 	1,15 ^{(3), (4)}	0,48 ^{(3), (4)}	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽²⁾ Jimenez (sd) ⁽³⁾ WHO (2004) ⁽⁴⁾ Zerbini e Chernicharo (2001) ⁽⁶⁾ Neves (2005) ⁽⁷⁾ OMS (2007) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)

Nota: (*) sem data e (**) não especificado

TABELA 2.6 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS OVOS DE HELMINTOS (CONTINUAÇÃO)

Helminto	Tamanho (µm) (comp. x larg)	Principais Características ^{(1), (2), (8)}	Densidade	Velocidade de Sedimentação (m/h)	Referência
Ancilostomídeo	<i>Ancylostoma</i> sp.: 60 a 76 x 30 a 40 ^{(2), (3), (4), (7)}	<ul style="list-style-type: none"> • forma: ovóide ou elíptica • sem segmentação ou clivagem • entre a casca e a célula-ovo há sempre um espaço claro que diminui à medida que avança a segmentação • membrana fina e transparente envolvida por uma linha preta 	<i>Ancylostoma</i> sp.: 1,055 ⁽⁵⁾ 1,06 ⁽⁴⁾	<i>Ancylostoma</i> sp.: 0,26 ^{((2), (3), (4))}	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽²⁾ Jimenez (sd) ⁽³⁾ WHO (2004) ⁽⁴⁾ Zerbini e Chernicharo (2001) ⁽⁵⁾ WHO (2005) ⁽⁷⁾ OMS (2007) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)
	<i>Ancylostoma duodenale</i> : em torno de 60 ⁽¹⁾		<i>Ancylostoma duodenale</i> : NE	<i>Ancylostoma duodenale</i> : NE	
	<i>Necator americanus</i> : em torno de 70 ⁽¹⁾		<i>Necator americanus</i> : NE	<i>Necator americanus</i> : NE	
<i>Enterobius vermicularis</i>	50 a 60 x 20 a 32 ^{(1), (2), (6)}	<ul style="list-style-type: none"> • membrana dupla, lisa e transparente • ligeiramente achatado de um lado • possui no seu interior uma larva já formada 	NE	NE	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽²⁾ Jimenez (sd) ⁽⁵⁾ WHO (2005) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)
<i>Hymenolepis diminuta</i>	70 a 80 µm de diâmetro ^{(1), (2), (7)}	<ul style="list-style-type: none"> • forma: aproximadamente esférica • apresenta dupla casca • não possui filamentos dispostos no espaço que separa a casca interna da externa • oncosfera típica, com seus três pares de acúleos, estando envolvida por duas membranas 	NE	NE	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽²⁾ Jimenez (sd) ⁽⁷⁾ OMS (2007) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)

Nota: (*) sem data e (**) não especificado

TABELA 2.6 – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS OVOS DE HELMINTOS (CONCLUSÃO)

Helminto	Tamanho (µm) (comp. x larg)	Principais Características (1), (2), (8)	Densidade	Velocidade de Sedimentação (m/h)	Referência
<i>Hymenolepis nana</i>	30 a 47 µm de diâmetro ^{(1), (2), (6), (7)}	<ul style="list-style-type: none"> • forma: ovóide ou arredondada • cor: transparente • oncosfera típica, com seus três pares de acúleos, estando envolvida por duas membranas • possui filamentos polares 	NE	NE	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽²⁾ Jimenez (sd) ⁽⁶⁾ Neves (2005) ⁽⁷⁾ OMS (2007) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)
<i>Taenia</i> spp	<i>Taenia</i> sp: 30 µm de diâmetro ⁽¹⁾ 30 x 40 ⁽²⁾ 31 x 43 ⁽⁷⁾	<ul style="list-style-type: none"> • forma: esférica • possui uma casca protetora denominada embrióforo • dentro do embrióforo se encontra a oncosfera ou embrião hexacanto com dupla membrana e três pares de acúleos 	<i>Taenia</i> sp: NE	<i>Taenia</i> sp: NE	⁽¹⁾ Rey (1991) ⁽²⁾ Jimenez (sd) ⁽³⁾ WHO (2004) ⁽⁴⁾ Zerbini e Chernicharo (2001)
	<i>Taenia sarginata</i> : 40 x 35 ^{(4), (5)}		<i>Taenia sarginata</i> : 1,30 ^{(4), (3)}	<i>Taenia sarginata</i> : 0,83 ^{(4), (3)}	⁽⁵⁾ WHO (2005) ⁽⁶⁾ Neves (2005)
	<i>Taenia solium</i> : 30 x 35 ⁽⁶⁾		<i>Taenia solium</i> : NE	<i>Taenia solium</i> : NE	⁽⁷⁾ OMS (2007) ⁽⁸⁾ Cimerman e Franco (2005)

Nota: (*) sem data e (**) não especificado

2.3.5 Principais técnicas utilizadas para a identificação e quantificação dos ovos de helmintos

Para a determinação da viabilidade de um ovo é necessária a utilização de técnicas de incubação, assim, é necessária a observação do desenvolvimento embrionário em condições naturais. As técnicas podem ser a incubação *in vivo* e *in vitro*. A incubação *in vivo*, consiste em inocular os ovos de helmintos no animal de experimentação; aguardar o tempo necessário para o desenvolvimento embrionário e, em seguida, ao término do ciclo biológico do parasita, sacrificar o animal para examinar os órgãos infectados pelas larvas. A incubação *in vitro* consiste em inocular os ovos de helmintos, em um suporte sólido ou líquido, que permanecerá incubado no período de 20 dias, no mínimo, ou, no máximo de 28 dias, com a temperatura de 28°C, tornando estas condições favoráveis, para que o embrião desenvolva até a etapa infectante (ZERBINI e CHERNICHARO, 2001).

Segundo Carrington (2001), a identificação dos ovos de helmintos e cistos de protozoários é complexa e a viabilidade é de difícil determinação, o que é corroborado pelas observações de Silva (2008), que afirma ser necessário avaliar as técnicas utilizadas para a recuperação, quantificação e identificação de ovos de helmintos em lodo de esgoto, pois a velocidade de sedimentação dos diferentes tipos de helmintos é diferente e, portanto, depende das condições de experimentais.

A microscopia ótica utilizada para a identificação da morfologia dos ovos de helmintos é simples, porém, segundo Zerbini e Chernicharo (2001), existe a necessidade de padronização dos procedimentos de preparação das amostras, além de ser exigida acuidade visual, habilidade e experiência do analista, pois a diferenciação entre os tipos de ovos é difícil para principiantes.

Maya *et al.* (2002) adotam para a determinação da viabilidade de ovos de helmintos, lavagens contínuas, diversas etapas de filtração e flotação, utilizando uma solução saturada de sulfato de zinco com densidade de 1,30, que tem por finalidade de ressuspender os ovos de helmintos, através de centrifugação das amostras analisadas (COELHO *et al.*, 2002; MAYA *et al.*, 2006). A viabilidade é determinada por incubação em H₂SO₄ 0,1N, a 26°C durante 20 dias. O resultado será positivo com a identificação da presença de larva. Segundo Maya *et al.* (2002), as diferentes técnicas utilizadas para a determinação e quantificação do grupo de parasitas de origem fecal permitem classificar até o gênero, com produção de resultado seguro.

Para a identificação e contagem de ovos de helmintos existem várias técnicas, que serão apresentadas a seguir (BAILENGER, 1979; YANKO, 1987; AYRES, 1989).

A norma oficial mexicana, NOM-004-SEMARNAT-2002, estabelece a densidade de 1,30 para a solução de sulfato de zinco.

Coelho *et al.* (2002) afirmam que, apesar das técnicas para a determinação de ovos de helmintos no lodo serem bastante estudadas, ainda são consideradas de baixa eficiência de detecção. Nem todos os ovos de helmintos ressuspendem com o mesmo tipo de solução, sugeridos pelos métodos tradicionais, como o caso do ovo da *Taenia* sp., cuja densidade é 1,30. Portanto, é de fundamental importância que uma metodologia padronizada e realmente efetiva seja certificada para a detecção e quantificação de ovos de parasitas, visando garantir a qualidade, do lodo para a aplicação na agricultura, conforme especificado na Resolução CONAMA nº 375/06 (CONAMA, 2006a).

Zerbini e Chernicharo (2001) constataram que o método da coloração utilizados por Rojas *et al.* (1998) possibilita a identificação tanto de ovos de helmintos viáveis (não corados) quanto de ovos não viáveis (corados), considerado uma identificação eficiente e de rápido resultado em sua identificação visual no microscópio ótico. No entanto, Maya *et al.* (2006) adotaram esta técnica de coloração em sua pesquisa, comparando simultaneamente a técnica de Yanko modificado (YANKO, 1987), e constataram que o corante Azul de Tripan apresentou resultados positivos, como propõe a técnica, e resultados falsos positivos, que é quando um ovo de helminto não se apresenta viável, porém, uma vez submetido a um período posterior de incubação, com temperatura de 26°C por 20 dias, como especificada na metodologia de Yanko modificado (YANKO, 1987), ocorre o desenvolvimento da larva no interior do ovo. Com esta observação, Maya e seus colaboradores (2006) afirmaram que há a necessidade da verificação dos ovos de helmintos no período embrionário, prevalecendo a importância de incubação dos ovos de helmintos.

Coelho *et al.* (2002) testaram métodos utilizados para a determinação de ovos de helmintos em lodo de esgoto, tendo determinado como resultado:

- a) no Método de Bailenger modificado (BAILENGER, 1979; AYRES, 1989; AYRES *et al.*, 1996), o resíduo sólido produzido na finalização do procedimento experimental não permite a observação de ovos de helmintos

quando é realizada a leitura em câmara de McMaster;

b) o Método de Leeds I (BAILENGER, 1979; AYRES, 1989; AYRES *et al.*, 1991), apresenta-se como um método qualitativo, eficiente na ressuspensão dos ovos, no entanto, uma grande quantidade de resíduo no final do procedimento é gerada, o que impede a leitura por microscopia ótica em câmara de Sedgewick-Rafter;

c) no Método de Yanko (YANKO, 1987), a parte sólida da amostra, após centrifugação, é descartada, e a leitura dos ovos é realizada por microscopia ótica, em câmara de Sedgewick-Rafter, apenas na fração líquida da amostra. Este método permite observar a separação dos ovos de baixa densidade daqueles de maior densidade. Neste método os ovos são ressuspensos com solução de sulfato de zinco, com densidade 1,18;

d) no Método de Yanko modificado (SOCCOL *et al.*, 2000), os ovos também são ressuspensos, entretanto, a densidade do sulfato de zinco é de 1,20. A leitura é realizada em câmara de Sedgwick-Rafter ou de McMaster.

Maya *et al.* (2006) e Maya *et al.* (2008) estudaram e verificaram a importância das densidades dos ovos de helmintos, e concluíram que cada ovo possui uma velocidade de sedimentação característica e, para obter maior abrangência em termos de ovos de helmintos identificáveis, utilizam a densidade de sulfato de zinco a 1,30, para garantir a identificação e quantificação de ovos de *Taenia* sp.

Os resultados de Zerbini e Chernicharo (2001) corroboram os resultados de Coelho e colaboradores (2002), sendo que neste caso os autores afirmam que o Método de Bailenger modificado (BAILENGER, 1979; AYRES, 1989; AYRES *et al.*, 1996) é de realização simples, com utilização de material de baixo custo, tendo se mostrado adequado para a quantificação e identificação de ovos de helmintos em esgotos brutos e tratados. Os autores afirmaram que, dependendo das características do esgoto, o tempo necessário para a leitura final é curto e que o método permitiu recuperar algumas espécies de ovos, tais como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, Ancilostomídeos, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta* e *Enterobius vermiculares*, comumente encontrados em esgotos brutos e tratados.

2.3.6 Organismos que podem interferir na contagem de ovos de helmintos

Na estabilização do esgoto atua um consórcio de microrganismos, relacionados aos distintos ambientes ecológicos, que se alternam no decorrer do tempo (CUTOLO, 2000).

Entre as espécies da microfauna do lodo, encontram-se a Tardígrada e a *Isospora* sp.

2.3.6.1 Tardígrada

Os Tardígradas representam um grupo de pequenos animais, denominados ursos d'água (FILIPE, 2008), conforme apresenta a Figura 2.7. Geralmente, vivem em musgos ou líquens úmidos, algumas vezes, podem ser encontrados em interstícios em praias marinhas arenosas. Podem suportar temperaturas extremas e dessecação, durante o período de seca. Nesta condição, perdem água, contraem-se e entram em estado de criptobiose, anabiose, e quando colocados em água, revivem rapidamente, após anos em estado criptobiótico (BRUSCA e BRUSCA, 2007).



Legenda: ovos de *Milnesium tardigradum*, microscopia eletrônica

FIGURA 2.7 - TARDÍGRADA (URSO D'ÁGUA)

FONTE: Mach. Das Bärtierchen-Journal (2009)

Em função da característica celular, criptobiose e ausência de macho, a posição dos Tardígradas, na filogenética, é duvidosa (STORER *et al.*, 1991).

A interferência da presença dos ovos de tardígradas, em relação à identificação e quantificação de ovos de helmintos, está relacionada à semelhança com os ovos de Ancilostomídeos, desta forma, podem confundir a leitura de ovos de helmintos, induzindo ao erro de contagem de Ancilostomídeos. Entretanto, deve ser salientado que este organismo é um animal não patogênico.

2.3.6.2 *Isospora belli*

Protozoário coccídeo causador da isosporíase, doença rara que tem sido registrada nas mais diversas regiões do mundo. Apresenta dimensões de 20 a 33 μm de comprimento por 10-19 μm de largura (OMS, 2007). Deste gênero, duas espécies parasitam o homem, o *Isospora belli* e o *Isospora natalensis*. O *Isospora natalensis* não é descrito no Brasil, sendo encontrado com frequência na África. Estes protozoários são encontrados nas fezes e as infecções humanas são geralmente assintomáticas, entretanto, podendo ocorrer casos com febre, diarreia e cólicas abdominais. A contaminação em humanos ocorre pela ingestão de alimentos contaminados por oocistos, que são a forma infectante da isosporíase (REY, 1991; IGLÉSIAS, 1997; LIMA, 2005). O ciclo assexuado tem início quando o oocisto é formado e eliminado, sendo que após a sua eliminação ocorre a esporulação. A reprodução corre em duas fases, sendo a primeira assexuada e, a segunda, sexuada (PEREIRA *et al.*, 2009). A Figura 2.8 apresenta um oocisto de *Isospora belli*.



a) esporoblasto – oocisto imaturo



b) esporozoítas - oocisto maduro, forma infectante.

FIGURA 2.8 – MICROSCOPIA ÓTICA DE *Isospora belli*

FONTE: a) <<http://www.ufrgs.br/para-site/siteantigo/Imagensatlas/Protozoa/Isospora.htm>> Acesso em 07/07/2010; b) <<http://www.ufrgs.br/para-site/siteantigo/Imagensatlas/Protozoa/Isospora.htm>> Acesso em 07/07/2010.

Em relação à identificação de ovos de helmintos também pode ser considerada a interferência dos ovos de *Isospora belli*, que também podem confundir a leitura de ovos de Ancilostomídeos. Assim, a contagem de ovos de helmintos deve-se realizar cuidadosamente, principalmente quando se tem pouca habilidade de leitura de lâminas.

2.4 FUNDAMENTOS DA DIGESTÃO ANAERÓBIA

A digestão anaeróbia é um processo de estabilização biológica da matéria orgânica, no qual diferentes microrganismos atuam na ausência de oxigênio, para transformar compostos orgânicos complexos em produtos mais simples, como o metano, o gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia. A degradação da matéria orgânica ocorre em quatro etapas principais, a saber: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (MCCARTY, 1966; GOSH e CONRAD, 1975).

A Figura 2.9 apresenta a representação esquemática da digestão anaeróbia da matéria orgânica.

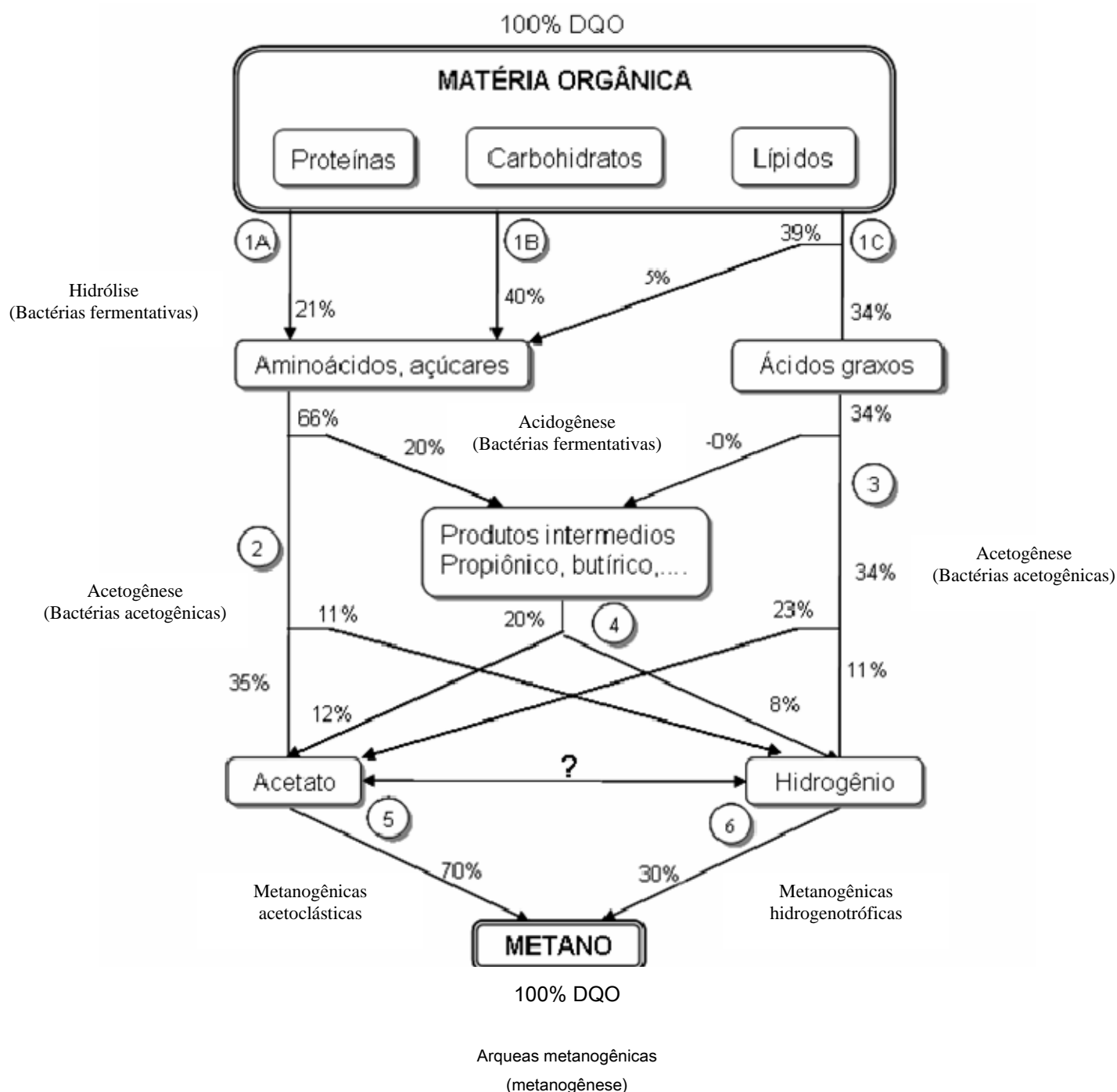


FIGURA 2.9 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA PROPOSTA PARA A DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DA MATÉRIA ORGÂNICA

FONTE: Gujer e Zhender (1983)

De acordo com McCarty (1966), a hidrólise refere-se ao processo de ruptura, destruição de sólidos ou quebra de moléculas orgânicas complexas, caracterizadas pelos polímeros de carboidratos, proteínas e lipídeos, que são convertidos em moléculas menores, sacarídeos, peptídeos e ácidos graxos de cadeia curta,

respectivamente. Para o sistema de tratamento de esgotos, o principal objetivo dos processos hidrolíticos é a conversão de substratos lentamente biodegradáveis em substratos disponíveis para o metabolismo celular (CHERNICHARO, 2007). Na acidogênese, os compostos orgânicos mais simples são convertidos, por meio do metabolismo de bactérias facultativas e anaeróbias, denominadas acidogênicas, em sais de ácidos graxos voláteis de cadeia curta, acetato propionato e butirato, além de outros subprodutos como álcoois. A etapa de acidogênese pode afetar diretamente o desempenho da metanogênese, pois em função das características das bactérias acidogênicas, a velocidade de formação dos ácidos graxos é, muitas vezes, maior do que a capacidade de metabolização dos organismos formadores de metano (COOKSON e BURBANK, 1965; MCCARTY, 1966; BRAGA, 1989). Na acetogênese, ocorre conversão dos ácidos graxos em ácido acético e hidrogênio, por um grupo de bactérias específicas.

Na etapa seguinte, metanogênese, considerada a mais importante e sensível do processo anaeróbio, o acetato é metabolizado a metano e dióxido de carbono, por um grupo de organismos, substratos específicos, denominados arqueas metanogênicas (WOESE *et al.*, 1990). A produção de metano durante o processo de digestão anaeróbia pode ser levado a efeito por vias diferentes que estão associadas a microorganismos diferentes. As arqueas metanogênicas autotróficas oxidam hidrogênio na presença de dióxido de carbono, que é utilizado como receptor final de elétron, e representa 30% da produção de metano. As arqueas metanogênicas acetoclásticas produzem metano a partir de acetato e metanol, entre outros, e representam 70% na produção do metano (WOESE *et al.*, 1978). Os gêneros *Methanosarcina* e *Methanosaeta* são capazes de utilizar o ácido acético como substrato, possibilitando um domínio da população de *Archaea* no digestor (WOESE *et al.*, 1990).

Na fermentação ácida, arqueas redutoras de sulfato atuam em conjunto com as arqueas metanogênicas, produzindo dióxido de carbono e gás sulfídrico. Em condições extremas, existe a possibilidade de as arqueas redutoras de sulfato suplantarem as arqueas metanogênicas, inibindo por completo a produção do metano (LUDUVICE, 2001).

2.4.1 Fatores interferentes no processo da digestão anaeróbia

As condições ambientais do meio de digestão, representadas pela temperatura, pH, concentração de ácidos graxos voláteis e alcalinidade, interferem diretamente no crescimento dos microorganismos. A temperatura é considerada um dos fatores mais importantes na seleção das espécies, pois os microorganismos não possuem meios para o controle da sua temperatura interna, sendo necessário, portanto, que as condições operacionais sejam controladas externamente, isto é, pelo controle da temperatura ambiente de digestão (MCCARTY, 1964). O crescimento microbiano nos processos biológicos podem ser levados a efeito em três faixas de temperatura distintas, conforme apresentado na Tabela 2.7.

TABELA 2.7 – FAIXAS DE TEMPERATURA PARA O DESENVOLVIMENTO ÓTIMO DAS BACTÉRIAS

Tipo	Temperatura (°C)	
	Faixa	Ótima
Psicrofílicas	-10 a 30	12 a 18
Mesofílicas	20 a 50	25 a 40
Termofílicas	50 a 75	55 a 65

FONTE: Metcalf e Eddy (2003)

A produção microbiana do metano pode ocorrer em uma faixa ampla de temperatura, 0° a 97°C, no entanto, a faixa mesofílica (30°C a 35°C) é aquela que se apresenta com melhor desempenho. De acordo com alguns autores, as temperaturas de operação de 32°C e 37°C podem ser consideradas ótimas (BRAGA, 1989; NOYOLA, 1998).

O pH, a alcalinidade e a concentração de ácidos voláteis são fatores ambientais que estão relacionados entre si, representando, portanto, a mesma importância para o controle dos processos anaeróbios. O efeito do pH afeta diretamente a atividade enzimática, resultando na mudança deste potencial e, indiretamente, na toxicidade do sulfeto, causado pela redução biológica dos sulfetos e de outros compostos orgânicos contendo enxofre. A faixa de pH para a formação de metano é identificada entre 6,0 e 8,0, porém, os microorganismos produtores de metano apresentam crescimento ótimo na faixa entre 6,6 e 7,4 (BRAGA, 1989; NOYOLA, 1998; CHERNICHARO, 2007).

O controle da alcalinidade proporciona o tamponamento do sistema, que representa resistência à alteração do pH. Nos processos anaeróbios, os principais

fatores que afetam o pH são as concentrações de ácido carbônico e dos ácidos voláteis. No processo anaeróbio, a alcalinidade de bicarbonato é convertida em alcalinidade de ácidos voláteis. A capacidade de tamponamento da alcalinidade dos ácidos voláteis ocorre na faixa de pH entre 3,75 e 5,75, sendo que a análise desta variável permite avaliar a estabilidade do pH, sendo considerado o meio mais seguro para o acompanhamento dos processos em digestores anaeróbios, pois a resposta do pH ao desbalanceamento do sistema pode ser, muitas vezes, tardia (BRAGA, 1989; CHERNICHARO, 2007).

2.5 DIGESTORES ANAERÓBIOS

Os digestores anaeróbios são classificados como digestores de alta e de baixa taxa. Para a digestão de baixa taxa, ou convencional, é recomendado um tempo de retenção hidráulico entre 30 e 90 dias (NOYOLA, 1998), e taxas de aplicação entre 0,5 e 1,2 kg SSV/m³.d (JORDÃO e PESSOA, 2009). Esta condição é utilizada para a digestão em único estágio, ou seja, dispõe de um digestor sem mistura, e quando processado para digestores mistos, a taxa de aplicação está entre 1,0 e 1,6 kg SSV/m³.d (NOYOLA, 1998).

Um dos fatores essenciais para a utilização dos reatores anaeróbios é o acúmulo da biomassa no interior do reator, devido à sedimentação, agregação a sólidos, ou recirculação. Este sistema faz com que o tempo de residência dos microrganismos seja maior que o tempo de detenção hidráulico, o que proporciona maior contato entre o substrato e a biomassa, resultando em satisfatória atividade da biomassa (MCCARTY, 1964).

Segundo Jordão e Pessoa (2009), a digestão de alta taxa, é realizada com taxa de aplicação de SSV entre 1,2 e 4,8 kg SSV/m³.d. Neste caso, o lodo é obrigatoriamente misturado por um sistema de homogeneização, e a digestão ocorre em dois estágios. Para esta condição, a temperatura de digestão ideal está na faixa de temperatura mesofílica, em torno de 35°C.

A determinação da produção de metano, a partir de lodos anaeróbios, pode ser determinada por dois métodos, a cromatografia gasosa e a atividade metanogênica específica - AME. O primeiro, nem sempre é fácil realização em função do custo do equipamento e, o segundo apresenta maior facilidade de implementação do sistema para a realização do ensaio.

O teste de AME é um parâmetro de monitoramento de grande importância da

digestão anaeróbia e consiste em incubar uma pequena quantidade de biomassa, em meio contendo substrato e nutrientes, medindo-se a produção de gás por unidade de biomassa e tempo. O teste de biodegradabilidade anaeróbia de um efluente permite determinar a fração de sólidos ou da demanda química de oxigênio que pode ser transformada potencialmente em metano (CBA, 1990; AQUINO *et al.*, 2007).

2.5.1 Reatores UASB

Na década de 1980, houve uma evolução no tratamento anaeróbio, estando relacionado, principalmente, ao desenvolvimento do conceito de reatores de leito de lodo em fluxo ascendente (LETTINGA *et al.*, 1980). Este reator foi aplicado ao tratamento de esgoto e de resíduos industriais variados, mesmo aqueles que apresentam compostos tóxicos ou inibidores à formação adequada do lodo (PATZA *et al.*, s.d.; JERIS e MC CARTY, 1965; JERIS e OWENS, 1975; DOLFING, 1986; KENNEDY e GUIOT, 1986; POL e LETTINGA, 1986; SWITZEMBAUM e GRADY JR, 1986; LETTINGA e POL, 1991).

Nos reatores UASB, as bactérias formam flocos ou grânulos que apresentam boa sedimentabilidade e constituem um “colchão ou manta” de lodo no interior do reator. Este equipamento foi concebido para promover separação eficiente de gases, sólidos e líquidos. Estes reatores são também conhecidos como Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente – RAFA; Digestor Anaeróbio de Fluxo Ascendente – DAFA; e Reator Anaeróbio de Lodo Fluidizado – RALF (AISSE, 2000; ZERBINI, 2000; CHERNICHARO, 2007; JORDÃO e PESSOA, 2009). A Figura 2.10 apresenta uma representação esquemática de um reator UASB.

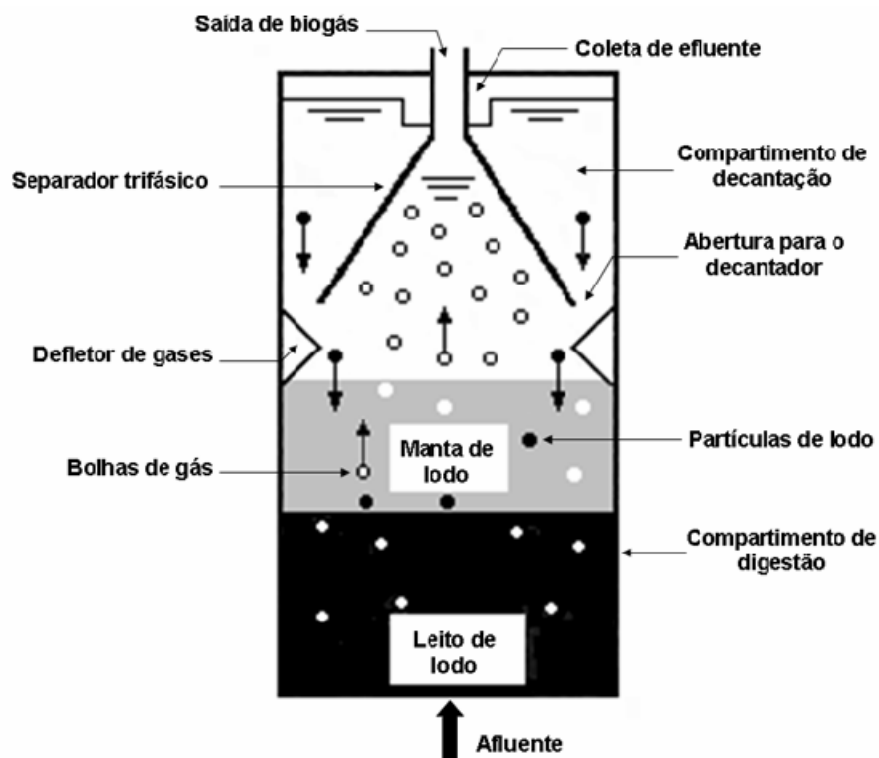


FIGURA 2.10 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM UASB

FONTE: Jordão e Pessoa (2009)

O resíduo, ao ser alimentado pela parte inferior, passa pela manta de lodo e atravessa no sentido ascendente. Parte da matéria orgânica permanece na manta de lodo, iniciando o processo de digestão anaeróbia. O separador de fases é responsável pela sedimentação e também pela coleta do biogás gerado. O efluente produzido é, então, coletado na parte superior do reator, em sua canalização (ZERBINI, 2000; CHERNICHARO, 2007; JORDÃO e PESSOA, 2009).

2.6 PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DO LODO DE ESGOTO

No processo de digestão anaeróbia, a hidrólise térmica de lodos, é considerada um marco importante. O pré-tratamento térmico facilita a estabilização, o aumento da desidratação do lodo e a redução do número de patógenos (NOYOLA *et al.*, 2007; ARCE, 2009).

No Quadro 2.4 são apresentados os principais organismos e as temperaturas e tempos de exposição para a eliminação de alguns microrganismos patogênicos.

Organismo		Tempo (min)	Temperatura (°C)
Bactérias	<i>Salmonella typhosa</i>	30 20 Instantâneo	55 a 60 60 46
	<i>Salmonella</i> sp.	15 a 20 60	60 55
	<i>Shigella</i> sp.	60	55
	<i>Escherichia coli</i>	15 a 20 60	60 55
	<i>Brucella abortus</i> ou <i>Br. suis</i>	50	45
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	10	54
	<i>Mycobacterium pyogenes</i> van. <i>Aureus</i>	10	50
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> van. <i>Homini</i>	15 – 20	66
	<i>Corynebacterium diphtheria</i>	45	55
Nematóides	<i>Ascaris lumbricoides</i>	60	Maiores 50
	<i>Necator americanus</i>	50	45
	<i>Trichinella spiralis</i> (larvas)	Instantâneo Eliminação rápida	60 55
Cestóides	<i>Taenia saginata</i>	Poucos min	55
Protozoários	<i>Entamoeba histolytica</i>	Poucos min Poucos seg	45 55

FONTE: Metcalf e Eddy (2003)

QUADRO 2.4 - TEMPERATURA E TEMPO DE EXPOSIÇÃO PARA A ELIMINAÇÃO DE ALGUNS ORGANISMOS PRESENTES EM LODO DE ESGOTO

Segundo Noyola e colaboradores (2007), a etapa de pré-tratamento com termohidrólise operando com temperatura controlada, entre 60° a 70°C, por um período de 60 minutos, seguido de digestão em reator UASB operado em temperatura mesofílica, permitiu a eliminação de ovos de helmintos.

Noyola *et al.* (2007), Maya *et al.* (2008) e Arce (2009) apresentaram resultados de pesquisas desenvolvidas utilizando relações entre temperatura e tempo para a hidrólise térmica de lodos de esgoto, visando a remoção de parasitas e patógenos. Estes autores observaram a inativação e a desnaturação de ovos de helmintos em diferentes temperaturas de tratamento de lodos, que variaram de 26° a 80°C, por períodos de 30 minutos a 3 horas de contato. Tabela 2.8 apresenta um resumo dos resultados obtidos por estes estudos.

TABELA 2.8 – REMOÇÃO DE PATÓGENOS COM TRATAMENTO TÉRMICO

Referência	Tratamento Térmico	Resultado
Noyola <i>et al.</i> (2007)	60 a 70°C 1 h	100% de inativação de ovos de helmintos
Maya <i>et al.</i> (2008)	26, 40, 50, 60, 70 e 80°C 3 h de contato	Inativação de ovos de helmintos de 10, 16, 57, 82, 100 e 100%, respectivamente
Arce (2009)	50, 60 e 70°C 30, 60 e 90 min	Inativação de ovos de helmintos a 70°C em 30, 60 e 90 min

Gavala *et al.* (2003) e Skladas *et al.* (2005) pesquisaram o efeito de um pré-tratamento a 70°C, em fase mesofílica e termofílica, para a digestão de lodo primário e secundário, tendo observado a produção de metano a partir de hidrólise térmica.

A Tabela 2.9 apresenta um resumo de resultados de diversos trabalhos que também utilizaram tratamento térmico associado ao tempo de exposição, entretanto, associado ao tipo de reator e tempo de retenção hidráulico. É possível observar a partir destes dados que o aumento da temperatura é diretamente proporcional à produção de biogás. Li e Noike (1992) obtiveram um aumento na produção de biogás de 100%, submetendo o lodo anaeróbio à temperatura de 175°C por 60 minutos. Gavala *et al.* (2003) submeteram o lodo a tratamento de 70°C por 7 dias. Entretanto, o longo período de aquecimento não alterou significativamente o rendimento na produção de biogás.

TABELA 2.9 – DIFERENTES PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICOS PARA A DIGESTÃO ANAERÓBIA MESOFÍLICA (CONTINUAÇÃO)

Referência	Tratamento Térmico	Digestão Anaeróbia	Resultado
Haug <i>et al.</i> (1978)	175°C 30 min	CSTR TRH = 15 d	Aumento na produção de metano de 115 a 186 mL/g DQO (>62%)
Stuckley e Mc Carty (1978)	175°C 60 min	Batelada TRH = 25 d	Aumento da conversão de DQO para metano de 48 a 68% (>42%)
Li e Noike (1992)	175°C 60 min	CSTR TRH = 5 d	Aumento na produção de biogás de 108 a 216 mL/g DQO (>100%)
Tanaka <i>et al.</i> (1997)	180°C 60 min	Batelada TRH = 8 d	Aumento na produção de metano (>90%)

TABELA 2.9 – DIFERENTES PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICOS PARA A DIGESTÃO ANAERÓBIA MESOFÍLICA (CONCLUSÃO)

Referência	Tratamento Térmico	Digestão Anaeróbia	Resultado
Fjordside (2001)	160°C	CSTR TRH = 20 d	Aumento na produção de biogás (>60%)
Gavala <i>et al.</i> (2003)	70°C 7 dias	Batelada	Aumento na produção de metano de 8,3 a 10,45 mmol/g de SV (>26%)
Barjenbruch e Kopplow (2003)	121°C 60 min	CSTR TRH = 20 d	Aumento na produção de biogás de 350 a 420 mL/ de SSV (>20%)
Jeonsgsik <i>et al.</i> (2003)	121°C 30 min	Batelada 7 d	Aumento na produção de biogás de 3657 a 4843 L/m ³ de lodo ativado (>32%)
Dohanyos <i>et al.</i> (2004)	170°C 60 s	Batelada TRH = 20 d Termofílico	Aumento na produção de biogás (>49%)
Valo <i>et al.</i> (2004)	170°C 60 min	Batelada, TRH = 24 d	Aumento na produção de biogás (>45%)
Valo <i>et al.</i> (2004)	170°C 60 min	CSTR TRH = 20 d	Aumento na produção de metano de 88 a 142 mL/g de DQO (+61%)
Graja <i>et al.</i> (2005)	175°C 40 min	Reator leito modificado, TRH = 22,9 d	65% de redução de SST
Bougrier <i>et al.</i> (2006a)	170°C 30 min	Batelada 24 d	Aumento na produção de metano de 221 a 333 mL/g DQO (>76%)
Bougrier <i>et al.</i> (2006b)	170°C 30 min	CSTR, 20 d	Aumento na produção de metano de 145 a 256 mL/g de SV (>51%)
Ferrer <i>et al.</i> (2008)	70°C 9 h	Batelada, 10 d	Aumento na produção de biogás (>30%)
Lu <i>et al.</i> (2008)	70°C 2 d	Batelada 13 d	Aumento na produção de metano (>48%)

Legenda: CSTR: Reator contínuo completamente misturado; TRH = Tempo de retenção hidráulica; SV = Sólidos voláteis; SSV = Sólidos suspensos voláteis; SST = Sólidos suspensos totais.

FONTE: Bougrier *et al.* (2008)

2.7 PROCESSO DE DESINFECÇÃO E USO DO LODO

Os lodos gerados por processo físico e biológico nas estações de tratamento de esgotos apresentam características indesejáveis como odores desagradáveis, presença de microrganismos patogênicos, elementos tóxicos de origem orgânica ou mineral e dificuldade de desidratação (AISSE, 2000).

A estabilização da matéria orgânica presente no lodo proporciona uma redução da concentração de microrganismos patogênicos compatíveis com lodos sanitariamente seguros (PINTO, 2001), isto é, aqueles que podem ser aplicados na agricultura com redução de risco à saúde pública e ao meio ambiente. Portanto, o processo de estabilização será escolhido de acordo com o tipo de destino final do lodo. Portanto, de acordo com as especificações da Resolução CONAMA 375/06,

em função das concentrações de ovos viáveis de helmintos e bactérias termotolerantes, os lodos de esgoto podem ser enquadrados nas Classes A e B, conforme apresentado anteriormente na Tabela 3.2.

De acordo com vários autores, a digestão anaeróbia do lodo é o processo mais utilizado para estabilizar os lodos produzidos em estações de lodos ativados. Outras alternativas de estabilização são o tratamento aeróbio, a estabilização química por meio da adição de cal, a compostagem (AISSE, 2000; PINTO, 2001, CASSINI *et al.*, 2003) e termo-hidrólise (CASSINI *et al.*, 2003, NOYOLA *et al.*, 2007).

Os processos de tratamento de lodos de esgoto apresentam como resultado uma diminuição da quantidade final a ser disposta nas ETEs, redução dos problemas de destinação final e higienização do lodo, o que pode contribuir com a diminuição dos impactos ambientais relacionados, promovendo a possibilidade de reutilização com finalidade de aplicação na agricultura.

Para finalizar, em função das informações apresentadas, as tecnologias desenvolvidas para tratar os lodos de esgoto por termohidrólise e/ou digestão anaeróbia, por um lado aumentam a sua biodegradabilidade e, por outro, aumenta a sua estabilidade para reciclagem agrícola, visando a recuperação de recursos ambientais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A abordagem deste trabalho foi voltada ao tratamento térmico e digestão da matéria orgânica de lodos de esgoto para aplicação na agricultura visando o cumprimento da Resolução do CONAMA nº 375/06 para lodos Classe A.

3.1 DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES DE TRABALHO

3.1.1 Preparo da mistura de lodos

Primeiramente, foi especificada a composição do lodo misto a ser utilizado para o desenvolvimento do trabalho. Para isso adotou-se a mistura de lodo primário na proporção de 60% em massa, proveniente de instalação piloto localizado na estação de tratamento de esgoto da SANEPAR (ETE-Belém) em Curitiba-PR; e lodo secundário na proporção de 40% em massa, proveniente da estação de tratamento de esgoto da SANEPAR (ETE-AUDI), em São José dos Pinhais – PR. Esta mistura foi adotada para representar as proporções do lodo de descarte, características do processo de lodos ativados convencional (decantação primária - tanque de aeração - decantação secundária) (RUBIO, 2004). Entretanto, como em Curitiba-PR, as estações da SANEPAR que operam por lodos ativados, são do tipo aeração prolongada e, portanto, não produzem lodo primário, assim foi necessária a produção deste componente da mistura em estação piloto, situada na Estação de Tratamento de Esgoto Belém (ETE–Belém), conforme apresentado na Figura 3.1.



FIGURA 3.1 – ESTAÇÃO PILOTO (ETE–Belém, Curitiba – PR)

FONTE: Aisse (2002)

A Tabela 3.1 apresenta os valores médios para as concentrações do conjunto de sólidos totais dos lodos brutos, isto é, lodo primário, lodo secundário, que compuseram o lodo misto utilizado para alimentação do sistema de reatores.

TABELA 3.1 – VALORES MÉDIOS DAS CONCENTRAÇÕES DO CONJUNTO DE SÓLIDOS PARA A MISTURA DO LODO DE ALIMENTAÇÃO

Local	STT (g/L)	STV (g/L)	STF (g/L)	STV/STT (%)
ETE Belém (lodo primário - LP)	14,10 (± 11,7)	9,40 (± 8,1)	4,70 (± 3,2)	64 (± 4,0)
ETE AUDI (lodo secundário - LS)	69,70 (± 19,2)	57,0 (± 17,1)	12,60 (± 2,3)	81 (± 1,7)
Lodo Bruto (mistura LP + LS)	44,23 (± 9,7)	32,17 (± 7,9)	12,05 (± 2,2)	73 (± 3,0)

FONTE: autor (2009)

3.1.2 Condições para o tratamento térmico

Esta pesquisa envolveu a avaliação da relação temperatura *versus* tempo mais adequada para a remoção de patógenos, como *Salmonella* spp, coliformes termotolerantes e ovos de helmintos. Para isso, à mistura de lodos, foram aplicadas as temperaturas de 50 °C, 60 °C e 70 °C *versus* tempos de aquecimento de 30 min, 60 min e 90 min, conforme apresentado no Quadro 3.1. Desta determinação foi avaliada a melhor condição de remoção de patógenos. Sendo que a contribuição mais eficiente foi adotada para todo o procedimento experimental, para avaliar a eficiência do reator UASB de hidrólise (RH).

Tempo (min)	Temperatura (°C)		
	50	60	70
30	X	X	X
60	X	X	X
90	X	X	X

QUADRO 3.1 – COMPOSIÇÃO DA RELAÇÃO TEMPERATURA *VERSUS* TEMPO PARA A TERMOHIDRÓLISE

FONTE: O autor (2009)

3.2 PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PATÓGENOS

3.2.1 Método parasitológico

3.2.1.1 Identificação e contagem de ovos de helmintos

Para a implementação desta metodologia foi adotado o método de Yanko modificado (SOCCOL *et al.*, 2000). Entretanto, devido às condições e equipamentos laboratoriais disponíveis foram necessárias algumas adaptações para a determinação do número e da viabilidade, *in vitro*, dos ovos de helmintos. Este procedimento foi implementado no Laboratório de Parasitologia, Universidade Positivo - UP.

O princípio do método: na metodologia apresentada por Soccol *et al.* (2000), utiliza tubos com volume de 100 mL durante a centrifugação, enquanto no Laboratório de Parasitologia – UP, a centrifugação foi realizada com tubos com volume de 15 mL. Desta forma, foi necessário calcular o volume da amostra a ser pesada, tendo sido obtida a massa de 6 g de amostra de lodo de esgoto, pesada em balança analítica, ao invés de 50 g de amostra. Em seguida, a amostra foi homogeneizada com água de lavagem, conforme composição apresentada a seguir, até o volume de 200 mL. A solução foi filtrada em cálice de sedimentação de plástico, conforme indicado pela Professora Blanca Jiménez, do Instituto de Engenharia da UNAM (contato pessoal, 2008), com funil de vidro. Para a filtração foram utilizadas duas faixas de gaze dupla (8 fios com 20 cm cada), sobrepostas, de modo cruzado, em funil, para remover as partículas sólidas. Este procedimento foi utilizado em substituição à peneira de 150 malhas por polegadas. O cálice de sedimentação foi coberto com filme plástico e mantido em temperatura ambiente por 12 horas, para ocorrer a sedimentação, como mostram as Figuras 3.2 e 3.3.

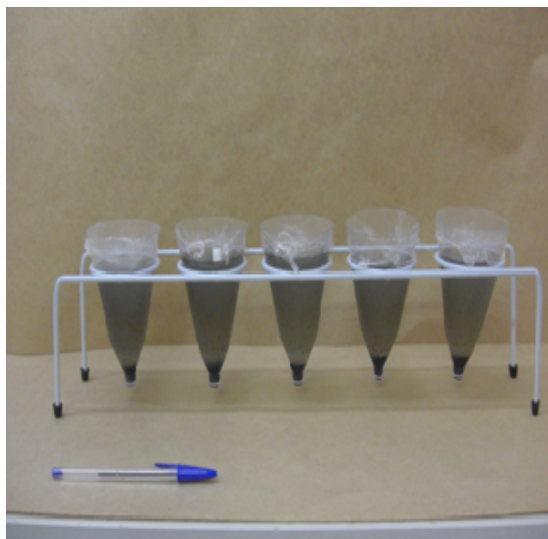


FIGURA 3.2 – SEDIMENTAÇÃO DAS AMOSTRAS - INÍCIO DAS 12h DE SEDIMENTAÇÃO

FONTE: O autor (2009)



FIGURA 3.3 – SEDIMENTAÇÃO DAS AMOSTRAS - APÓS 12h DE SEDIMENTAÇÃO

FONTE: O autor (2009)

As adaptações para o método de Yanko modificado são apresentadas nas Figuras 3.4 a 3.6.

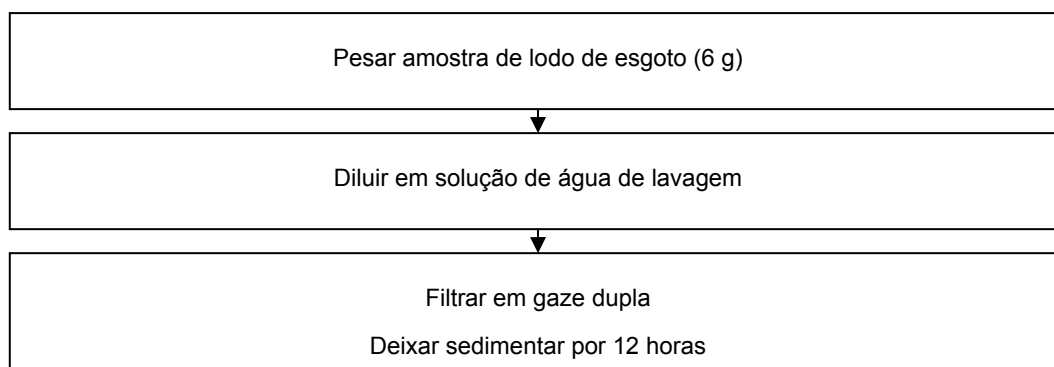


FIGURA 3.4 - ADAPTAÇÕES E IMPLEMENTAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO E DA VIABILIDADE *in vitro* DE OVOS DE HELMINTOS (MÉTODO DE YANKO MODIFICADO) - 1ª ETAPA

FONTE: O autor (2009)

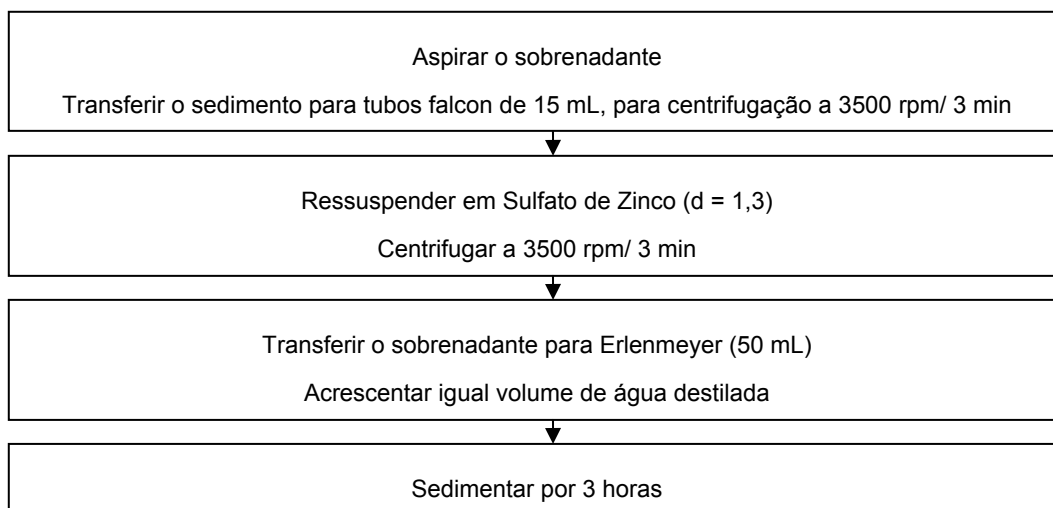


FIGURA 3.5 - ADAPTAÇÕES E IMPLEMENTAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO E DA VIABILIDADE *in vitro* DE OVOS DE HELMINTOS (MÉTODO DE YANKO MODIFICADO) - 2º ETAPA

FONTE: O autor (2009)

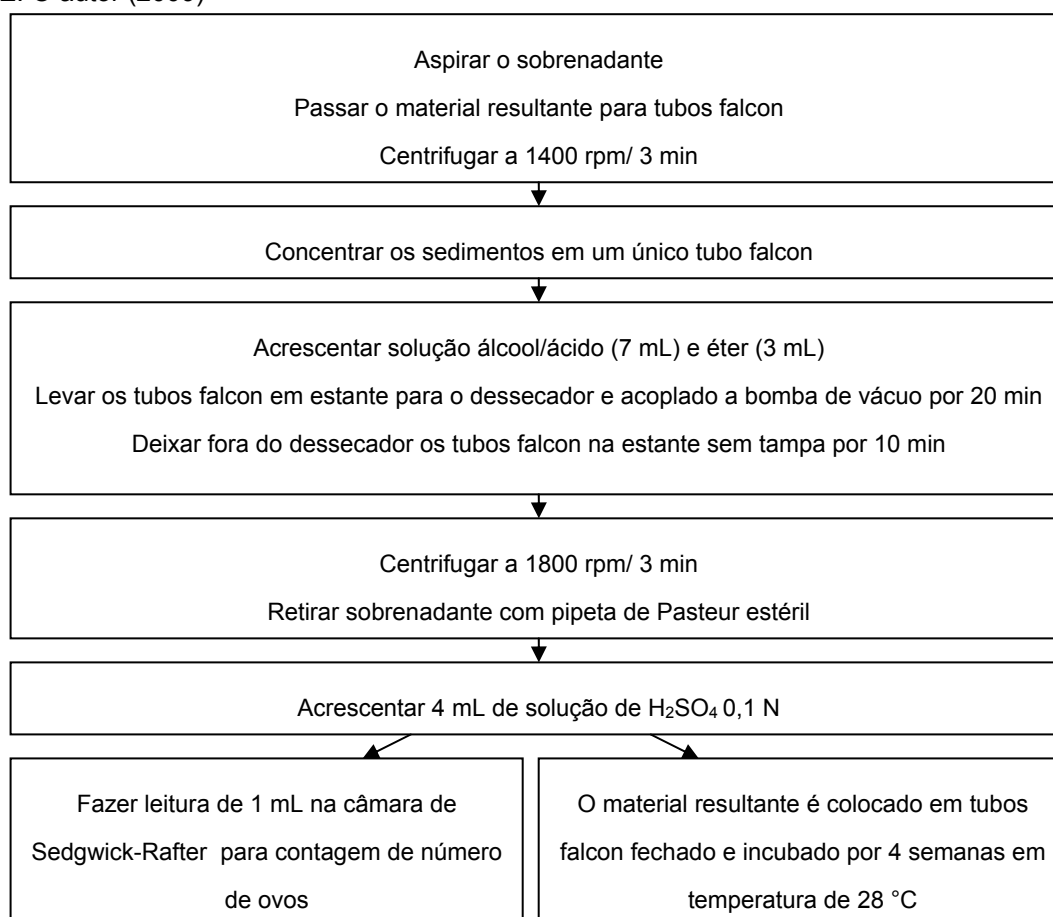


FIGURA 3.6 - ADAPTAÇÕES E IMPLEMENTAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO E DA VIABILIDADE *in vitro* DE OVOS DE HELMINTOS (MÉTODO DE YANKO MODIFICADO) - 3º ETAPA

FONTE: O autor (2009)

Após este tempo, o sobrenadante foi retirado com uma pipeta de 25 mL, deixando apenas o sedimento, conforme apresentado na Figura 3.7.



FIGURA 3.7 – CÁLICE DE SEDIMENTAÇÃO COM A AMOSTRA

FONTE: O autor (2009)

Em seguida, o volume foi transferido para tubos falcon, até o nível de 12 mL, e centrifugado a 3500 rpm por 3 minutos, conforme apresentado nas Figuras 3.8 a e b. Sendo retirado, então, o sobrenadante.

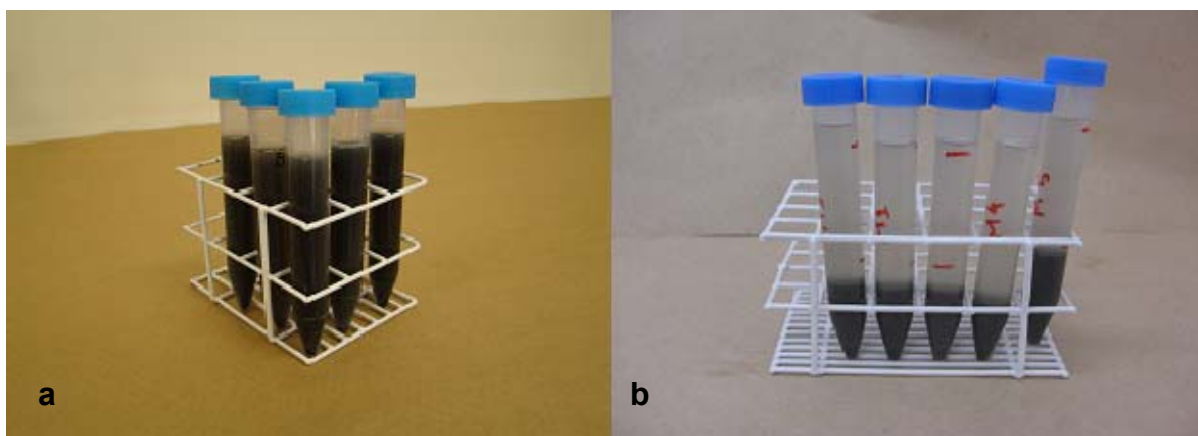


FIGURA 3.8 – TUBOS FALCON: a) ANTES DA CENTRIFUGAÇÃO, b) APÓS A CENTRIFUGAÇÃO

FONTE: O autor (2009)

Neste ponto foi realizada outra alteração no método de Yanko modificado (SOCCOL *et al.*, 2000). Conforme apresentado por Coelho *et al.* (2002), Maya *et al.* (2002) e Norma Oficial Mexicana NOM-004–SEMARNAT–2002, para garantir melhor ressuspensão dos ovos de helmintos, a densidade do sulfato de zinco foi alterada de

1,2 para 1,3. O sedimento resultante da centrifugação da operação anterior foi ressuspensionado com sulfato de zinco ($d= 1,3$) e centrifugado novamente a 3500 rpm, por 3 minutos. O volume do sobrenadante foi transferido para erlenmeyers de 50 mL (5 no total) e acrescido de um volume de água igual ao volume do tubo. Os erlenmeyers foram cobertos com filme plástico e os volumes deixados para sedimentar durante um período de 3 horas, como mostra a Figura 3.9.

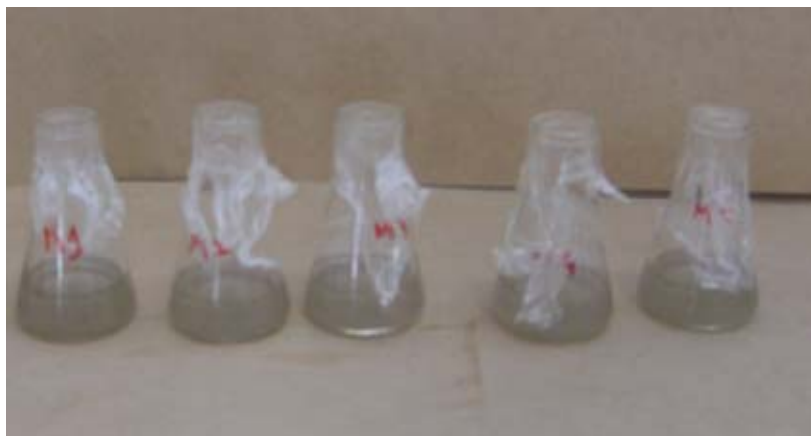


FIGURA 3.9 – SEDIMENTAÇÃO PARA O PERÍODO DE 3 HORAS

FONTE: O autor (2009)

Um volume de 1 ou 2 mL de sobrenadante da etapa anterior foi aspirado, com pipeta de Pasteur descartável e estéril. O sedimento foi ressuspensionado com agitação manual e transferido para tubos falcon até o nível de 12 mL. Desta operação resultaram dois tubos falcon por erlenmeyer, que foram centrifugados a 1400 rpm por 3 minutos. Após esta operação, foi retirado o sobrenadante de cada tubo e descartado. O sedimento resultante de cada tubo foi lavado e transferido para um único tubo falcon, com adição de 7 mL de solução ácido/álcool (H_2SO_4 0,1 N / C_2H_5OH 35%), conforme apresentado a seguir. A esta solução foi acrescentado um volume de 3 mL de éter etílico para solubilizar as gorduras persistentes (COELHO *et al.*, 2002). Os tubos falcon foram colocados em dessecador, que foi acoplado à bomba de vácuo, por 20 minutos, para sucção do éter.

Após este tempo, os tubos foram retirados do dessecador e deixados sem tampa por 10 minutos, para que o gás gerado fosse volatilizado. Em seguida, foram levados à centrifugação (1800 rpm) por 3 minutos. Do sobrenadante de cada tubo foi retirado o volume sobrenadante, com pipeta Pasteur descartável e estéril, e o sedimento foi ressuspensionado com 4 mL de solução de H_2SO_4 0,1 N. Da amostra acidificada foi retirado 1 mL para a contagem dos ovos de helmintos em câmara de

Sedgwick-Rafter.

O restante do material foi incubado por quatro semanas em estufa a 28°C. Cabe salientar que durante o período de quatro semanas, ou período embrionário, o sedimento deve ser ressuspensionado periodicamente e os tubos falcon devem se abertos para oxigenar o material.

Após este tempo foi realizada a contagem dos ovos viáveis em câmara de Sedgwick-Rafter, em microscópio ótico marca Lambda, modelo LMR-2. O resultado foi expresso em número de ovos por grama de massa seca, segundo Soccol *et al.* (2000).

A identificação dos ovos de helmintos foi viabilizada pela observação do material corado com Lugol em câmara de Sedgwick-Rafter, em microscópio ótico Olympus, modelo BX 41TF, com captura de imagens por câmera digital marca Olympus, modelo cool SNAP-PRO color, via programa computacional Image-pro Plus 4.5. As imagens capturadas foram comparadas às pranchas para diagnóstico de parasitas intestinais (OMS, 2007).

3.2.1.2 Materiais e reagentes utilizados

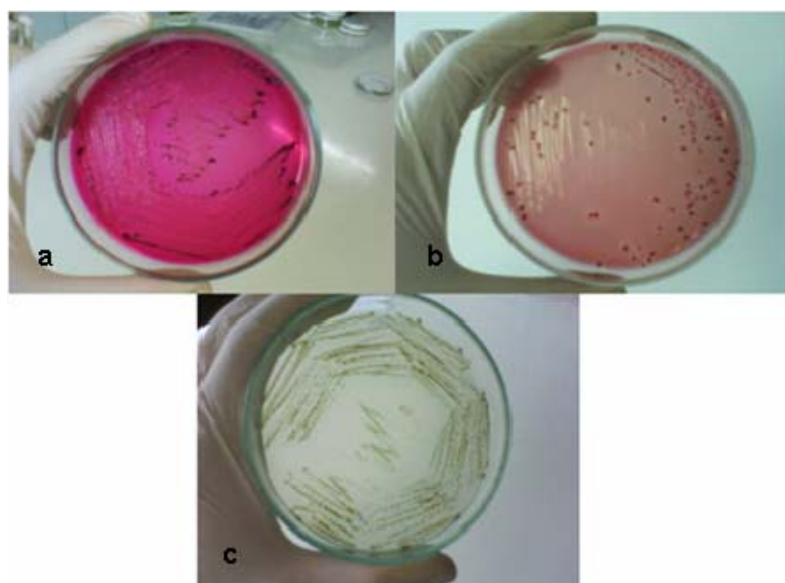
- Tampão fosfato: solução estoque de tampão fosfato dissolvidos 3,4 g de fosfato de potássio (KH_2PO_4) em 100 mL de água destilada. Ajustar pH = 7,2 com solução de NaOH 0,1 N. Mantido sob refrigeração ($T = 4^\circ\text{C}$).
- Cloreto de Magnésio: 8,11 g de Cloreto de Magnésio dissolvidos ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) em 100 mL. Mantido sob refrigeração ($T = 4^\circ\text{C}$).
- Solução tampão fosfato: 1,25 mL de solução estoque de tampão fosfato com 5 mL de solução de cloreto de magnésio, diluído com 1 L de água destilada. Mantido sob refrigeração ($T = 4^\circ\text{C}$).
- Água de lavagem: da solução de tampão fosfato, retirar 1 mL e acrescentar 1 mL do surfactante (tween 80 a 0,1%). Agitar bem. Ajustar pH = 7,2 com NaOH 0,1 N. Mantido sob refrigeração ($T = 4^\circ\text{C}$).
- Sulfato de Zinco ($d_{(\text{ZnSO}_4)} = 1,3$): 454 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ é dissolvidos em 1 L de água destilada.
- Solução ácido/álcool: homogeneizar 650,0 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4 0,1N) com 350,0 mL de álcool etílico absoluto ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

3.2.3 Métodos microbiológicos

3.2.3.1 Identificação de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de lodo de esgoto foi realizada para a determinação de presença ou ausência de *Salmonella* spp., foram utilizados meios seletivo e de isolamento. Para um possível enriquecimento de culturas de *Salmonella*, amostras de lodo bruto composto e tratado foram transferidas para caldo *Salmonella*, com incubação por 24 horas a 36° C. Após este tempo, amostras do material incubado foram transferidas para meios diferenciais, caldo Rappaport, caldo selenito-cistina e caldo tetracionato de Kauffmann e incubados por 24 horas a 36°C. Do caldo *Salmonella*, também foi realizado esfregaço em meios sólidos de isolamento, em placa de Petry, ágar verde brilhante-eosina-azul de metileno, ágar Rambach, ágar *Salmonella*-Shigella, ágar xilose-lisina desoxicolato e ágar bismuto-sulfito, com incubação das placas por 24 horas a 36°C, de acordo com metodologia especificada por Andraus *et al.* (2000).

As Figuras 3.10 a, b e c apresentam resultados de crescimento típico de *Salmonella* spp. a partir de cepa isolada pura. Devendo ser salientado que estas figuras não representam crescimento do material biológico do lodo, sendo apenas ilustrativas, servindo com verificação da qualidade dos meios de cultivo produzidos.



Legenda: a) meio ágar XLD; b) meio ágar Rambach; c) meio ágar Bismuto-Sulfito.

FIGURA 3.10 – MEIOS DE CULTIVOS PARA *Salmonella* spp.

FONTE: O autor (2009)

3.2.3.2 Coliformes termotolerantes

A contagem de coliformes termotolerantes em amostras de lodo de esgoto foi realizada pela técnica dos tubos múltiplos, de acordo com o procedimento descrito por Higaskino *et al.* (2000). Este procedimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia, Universidade Positivo – UP.

O princípio do método: oitenta gramas de amostra de lodo de esgoto foram homogeneizados por agitação, invertendo o frasco 25 vezes em ângulo de 45°. A técnica dos tubos múltiplos é um método presuntivo que detecta a presença de microrganismos fermentadores da lactose, no grupo dos coliformes, pela inoculação em meio enriquecido com nutrientes, o que favorece o crescimento dos microrganismos. A aplicação desta técnica permite verificar a produção de ácido por fermentação da lactose e a produção de gás em tubo de Durham.

Após a homogeneização foram seguidos as seguintes etapas:

- pesar 10 g da amostra, anteriormente homogeneizada e inocular em um o frasco de 90 mL de água de diluição (10^{-1}) procedendo-se a partir daí como com amostra líquida;
- com uma pipeta esterilizada de 1 mL e obedecendo aos cuidados de assepsia, transferir 1mL da diluição 10^{-1} para um frasco de contendo 9 mL da água de diluição tamponada, preparando-se assim a diluição decimal (10^{-2});
- homogeneizar a diluição (10^{-2}) e com uma nova pipeta esterilizada transferir 1 mL para outro frasco contendo 9 mL de água de diluição tamponada, conseguindo-se assim a 3° diluição decimal;
- homogeneizar a 3° diluição decimal e proceder como anteriormente, obtendo-se a 4° diluição decimal, a 5° diluição decimal e assim sucessivamente, até a diluição necessária;
- agitar o frasco contendo a 6° diluição e semear 1 mL da diluição em uma série de 5 tubos de caldo lactosado com púrpura de bromocresol;
- proceder desta maneira até a diluição de 10^{-1} mL e incubar em estufa a $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 28 horas;
- após o tempo determinado para incubação proceder à leitura dos tubos que apresentarem mudança de coloração para amarelo e/ou gás nos tubos de Durham (teste presuntivo).

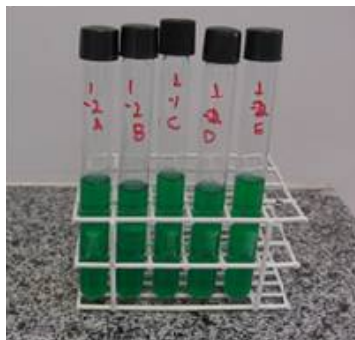


FIGURA 3.11 – TUBOS DE CALDO VERDE BRILHANTE BILE

FONTE: O autor (2009)

Os passos específicos do teste confirmativo são:

- transferir uma alçada dos tubos positivos provenientes do teste presuntivo em Caldo Verde Brilhante Bile (VB) e incubar a 24 horas a 35°C (Figura 3.11);
- transferir uma alçada dos tubos positivos provenientes do teste presuntivo em Caldo EC Medium e incubar a 24 horas a 44,5°C (Figuras 3.12 e 3.13);
- examinar a presença ou ausência de gás e registrar os resultados. Calcular o número mais provável (NMP) consultando as Tabelas 1 e 2.



FIGURA 3.12 – TUBOS DE CALDO *E. coli* EM BANHO-MARIA
FONTE: O autor (2009)

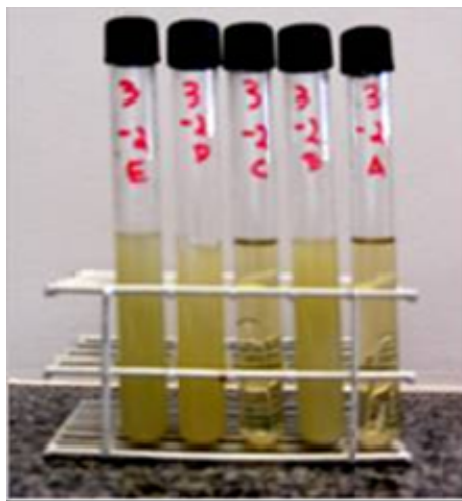


FIGURA 3.13 - TUBOS DE CALDO *E. coli*
FONTE: O autor (2009)

A sistemática para expressão dos resultados é a mesma de outras metodologias que se utilizam das tabelas de NMP.

Tabela 1 - Índice de NMP e limites de confiança de 95 % para combinações de resultados positivos e negativos com uso de 5 porções de 10 mL

Nº de tubos com reação positiva a partir de 5 tubos de 10mL	Índice de NMP/100 mL	Limites de confiança de 95%	
		Inferior	Superior
0	<2,2	0	6,0
1	2,2	0,1	12,6
2	5,1	0,5	19,2
3	9,2	1,6	29,4
4	16,0	3,3	52,9
5	>16,0	8,0	Infinito

FONTE: Higaskino *et al.* (2000)

Tabela 2 - Índice de NMP e limites de confiança de 95% para combinações de resultados positivos e negativos com uso de 5 porções de 10 mL, 5 porções de 1 mL e 5 porções de 0,1 mL (continua)

N° de tubos (ts) com reação positiva			Índice de NMP/100 mL	Limites de confiança de 95%	
5 tubos/ 10 mL	5 tubos/ 1 mL	5 tubos/ 0,1 mL		Inferior	Superior
0	0	0	<2	-	-
0	0	1	2	<1	10
0	1	0	2	<1	10
0	2	0	4	<1	13
1	0	0	2	<1	11
1	0	1	4	1	15
1	1	0	4	1	15
1	1	1	6	2	18
1	2	0	6	2	18
2	0	0	4	1	17
2	0	1	7	2	20
2	1	0	7	2	21
2	1	1	9	3	24
2	2	0	9	3	25
2	3	0	12	5	29
3	0	0	8	3	24
3	0	1	11	4	29
3	1	0	11	4	29
3	1	1	14	6	35
3	2	0	14	6	35
3	2	1	17	7	40
4	0	0	13	5	38
4	0	1	17	7	45
4	1	0	17	7	46
4	1	1	21	9	55
4	1	2	26	12	63
4	2	0	22	9	56
4	2	1	26	12	65
4	3	0	27	12	67
4	3	1	33	15	77
4	4	0	34	16	80
5	0	0	23	9	86
5	0	1	30	10	110
5	0	2	40	20	140
5	1	0	30	10	120
5	1	1	50	20	150
5	1	2	60	30	180
5	2	0	50	20	170
5	2	1	70	30	210
5	2	2	90	40	250
5	3	0	80	30	250
5	3	1	110	40	300
5	3	2	140	60	360
5	3	3	170	80	410
5	4	4	130	50	390
5	4	1	170	70	480
5	4	2	220	100	580
5	4	3	280	120	690
5	4	4	350	160	820

Tabela 2 - Índice de NMP e limites de confiança de 95% para combinações de resultados positivos e negativos com uso de 5 porções de 10 mL, 5 porções de 1 mL e 5 porções de 0,1 mL (conclusão)

Nº de tubos (ts) com reação positiva			Índice de NMP/100 mL	Limites de confiança de 95%	
5 tubos/ 10 mL	5 tubos/ 1 mL	5 tubos/ 0,1 mL		Inferior	Superior
5	5	0	240	100	940
5	5	1	300	100	1300
5	5	2	500	200	2000
5	5	3	900	300	2900
5	5	4	1600	600	5300
5	5	5	≥ 1600	-	-

FONTE: Higaskino *et al.* (2000)

A densidade de coliformes fecais é expressa como número mais provável, NMP de coliformes fecais por 100 mL. O NMP de coliformes fecais é obtido através de tabelas em que fornecidos os limites de confiança de 95% para cada valor de NMP determinado. Duas tabelas podem ser consultadas segundo o número de séries de 5 tubos inoculados (Tabelas 1 e 2). A Tabela 1 fornece NMP para todos os resultados possíveis, quando são inoculadas 5 porções de 10 mL da amostra. Posto que normalmente o lodo é rico em bactérias, a Tabela 1 não se aplica a amostras com alta densidade.

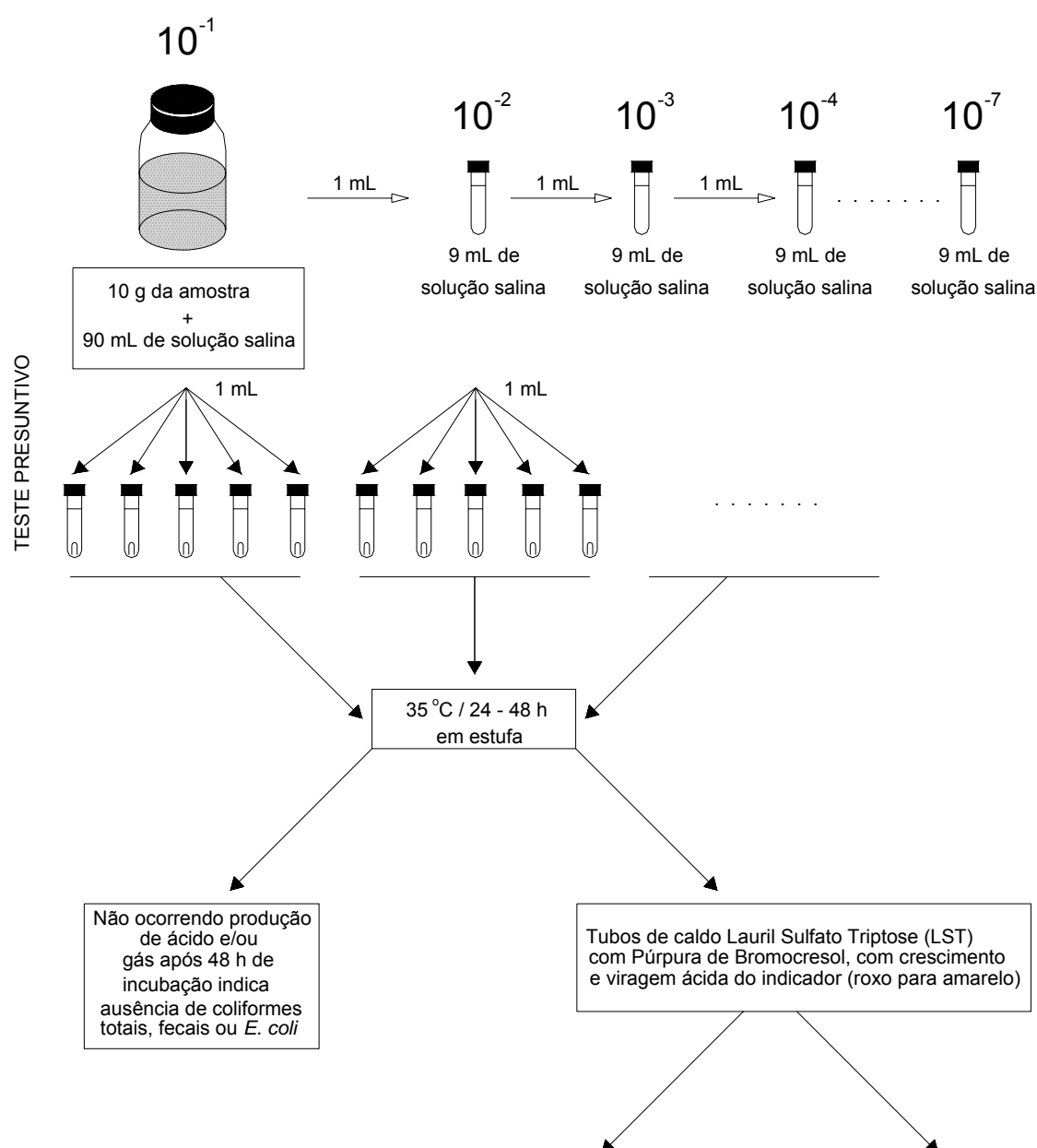
A Tabela 2 fornece o NMP para várias combinações de resultados positivos e negativos quando são inoculadas 5 porções de 10 mL, 5 porções de 1 mL e 5 porções de 0,1 mL da amostra. Embora os volumes indicados nesta Tabela se refiram originalmente a amostras de água pouco poluídas, ela pode ser também utilizada em amostras de lodo onde volumes maiores ou menores da amostra são inoculados. Para sua utilização, procuram-se os códigos formados por 3 algarismos correspondentes ao número de tubos com resultado positivo em 3 séries consecutivas inoculadas. Para a obtenção do NMP de coliformes fecais o código é formado a partir dos resultados obtidos no teste confirmativo, considerando-se como número de tubos positivos para a composição do código, o número de tubos de Caldo Lactosado inicialmente inoculados, cuja positividade dos resultados foi confirmada em Caldo EC Médiu.

Quando são inoculadas apenas 3 séries de 5 tubos, sendo utilizados os volumes indicados na Tabela .2 (10 mL, 1 mL e 0,1 mL), o NMP é obtido diretamente a partir daquela Tabela. Para isto, procura-se o código formado pelo número de tubos com resultados positivos obtidos nas 3 séries consecutivas inoculadas, verificando-se o NMP correspondente.

Em se tratando de amostras de lodo onde existe alta densidade de coliformes fecais, a expressão de resultado é normalmente realizada através da fórmula a seguir. Neste caso procura-se o código formado pelo número de tubos com resultado positivo obtido nas 3 séries consecutivas inoculadas, verificando-se o valor de NMP correspondente a ele; o valor do NMP / 100 mL será dado pela Equação (3.1):

$$\text{NMP/100mL} = \text{NMPcorrespondenteaocódigo} \times \frac{10}{\text{maiorvolumeinoculado}} \quad (3.1)$$

A Figura 3.14 apresenta o esquema geral da análise em amostras de lodo de esgoto para contagem de coliformes totais / fecais e *E. coli* pelo método do número mais provável (NMP), conforme descrito por Higaskino *et al.* (2000).



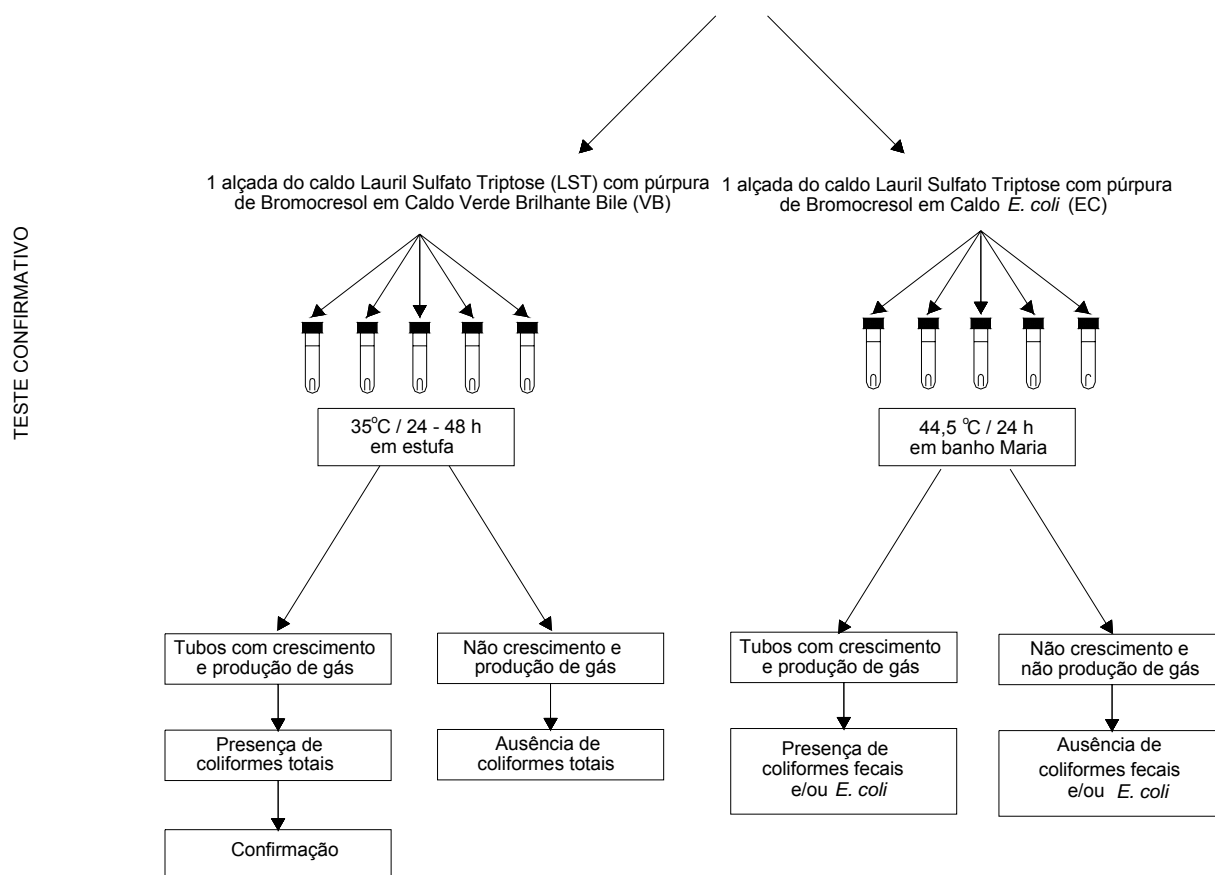


FIGURA 3.14 – ESQUEMA DE ANÁLISE PARA CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS/FECAIS E *E. coli* PELO MÉTODO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP) EM AMOSTRAS DE LODO DE ESGOTO

FONTE: O autor (2009)

3.3 VARIÁVEIS FÍSICAS, QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

Para o acompanhamento das condições operacionais dos reatores RH e RM foram analisados os parâmetros físicos e químicos, DQO total e solúvel, conjunto de sólidos totais (totais, fixos e voláteis), alcalinidade a pH 5,75 e alcalinidade a pH 4,3, conforme o Quadro 3.2. As análises físicas e químicas, para as variáveis de controle dos reatores foram realizadas no Laboratório de Engenharia Ambiental Prof. Francisco Borsani Netto – LABEAM / UFPR. Estes procedimentos foram realizados de acordo com a metodologia especificada pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998).

Também foram acompanhados e analisados a temperatura, o pH e a relação α (alc. pH 5,75 / alc. pH 4,3), esta última tendo sido realizada de acordo com metodologia especificada pelo Manual de Técnicas de Laboratório, Coordenação de

Bioprocessos Ambientais, Instituto de Engenharia (CBA, 1990; NOYOLA *et al.*, 2007). Este método consiste em coletar uma amostra de 50 mL, medir o pH; acidificar até pH 5,75, anotar o volume de H₂SO₄ 0,02N utilizado, com o devido Fator de correção (Fc), continuar acidificando até pH 4,3 e anotar volume total consumido. Os cálculos para a alcalinidade (pH = 5,75), alcalinidade (pH = 4,3) e a relação alfa (α) são realizados por meio das Equações (3.2), (3.3) e (3.4), respectivamente.

$$\text{Alcalinidade}(pH = 5,75) = \frac{(mL_{pH(5,75)}) \cdot (0,02) \cdot (Fc) \cdot (50000)}{(amostra_{mL})} \quad (3.2)$$

$$\text{Alcalinidade}(pH = 4,3) = \frac{(mL_{pH(4,3)}) \cdot (0,02) \cdot (Fc) \cdot (50000)}{(amostra_{mL})} \quad (3.3)$$

$$\text{Relação}(\alpha) = \frac{(mL_{Alcalinidade}(pH = 5,75))}{(mL_{Alcalinidade}(pH = 4,3))} < 1 \quad (3.4)$$

O Quadro 3.2 apresenta informações sobre os métodos de análise, pontos de coleta e frequência de coleta para as variáveis de controle.

As amostras foram mantidas refrigeradas a 4°C, para que suas características físicas e químicas não fossem alteradas.

Variáveis	Método	Ponto de coleta	Frequência
DQO _S (MG/L)	Refluxo aberto	E, S1, S2, S3	3 vezes por semana
DQO _T (mg/L)	Refluxo aberto	S2, S3	3 vezes por semana
Conjunto de Sólidos Totais (CST) (mg/L)	Gravimétrico	E, S1, S2, S3, L	3 vezes por semana
pH (unidades de pH)	Potenciométrico	E, S1, S2, S3, L	Diário
Temperatura (°C)	Termométrico	E, S1, S2, S3	Diário
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	Titulométrico	E, S1, S2, S3, L	Diário
Relação Alcalinidade (α)	aplicação da Equação 3.4	E, S1, S2, S3, L	Diário

Legenda: E: entrada no sistema; L: lodo de descarte do reator; S1: saída do reator termohidrolisador; S2: saída do reator de hidrólise; S3: saída do reator metanogênico

QUADRO 3.2 – VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS EMPREGADOS NO MONITORAMENTO EXPERIMENTAL

FONTE: O autor (2009)

3.4 O EQUIPAMENTO

3.4.1 Localização da unidade

O experimento, utilizado neste estudo, foi instalado no Laboratório de Engenharia Ambiental Professor Francisco Borsari Netto – LABEAM, do Departamento de Hidráulica e Saneamento, da Universidade Federal do Paraná, no

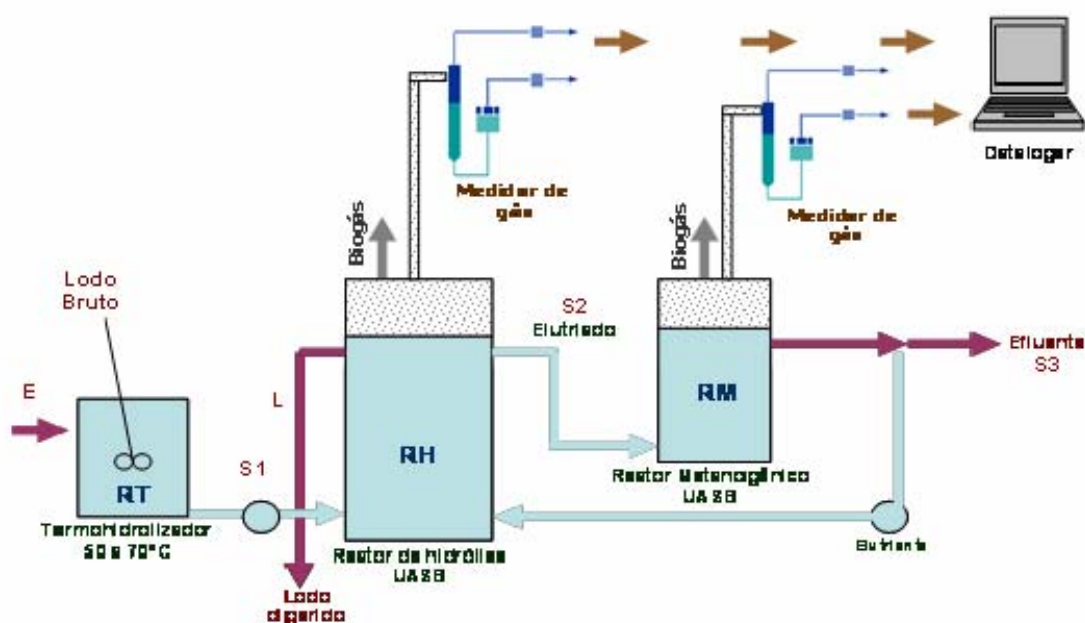
Campus Centro Politécnico.

3.4.2 Descrição do equipamento

O equipamento foi originalmente concebido por Noyola *et al.* (2007), entretanto, para melhorar a operação e o funcionamento foram realizadas algumas alterações na concepção original do sistema, que teve agregados o sistema de contagem de gás e de pré-hidrólise térmica, conforme Figura 3.15.

O equipamento consiste de um reator termohidrolisador (RT), que tem a função de pré-tratamento térmico, para higienização e pré-hidrólise da matéria orgânica, seguido de um reator de hidrólise tipo UASB (RH), que tem a função de digerir o lodo, com elutriação quando acrescentado o reator metanogênico (RM). Assim, o efluente produzido pelo reator RH é conduzido para o reator metanogênico (RM), e o efluente deste último é recirculado para o reator de hidrólise, como apresentado a Figura 3.15.

Neste estudo ambos reatores foram operados na faixa mesofílica de temperatura.



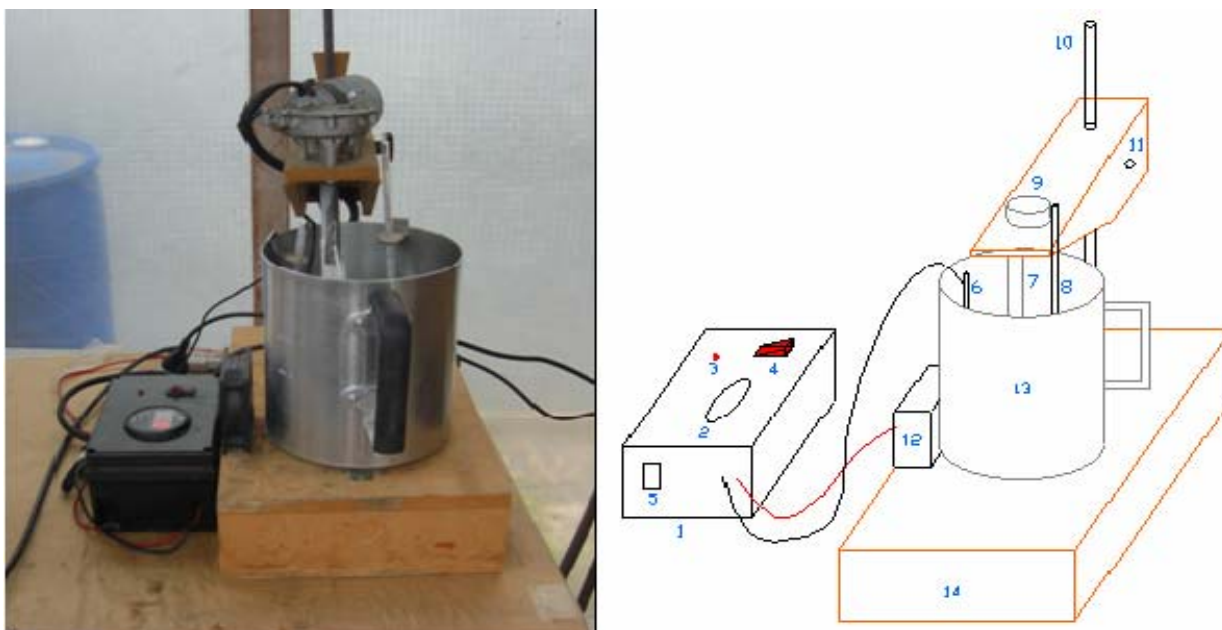
Legenda: **RT** = Reator Termohidrolisador (pré-tratamento térmico - higienização e hidrólise térmica); **RH** = Reator de Hidrólise (reator/digestor -lodos tipos UASB com elutriação); **RM** = Reator Metanogênico (UASB Convencional); **E** = entrada; **L** = lodo descarte; **S1, S2, S3** = Saída.

FIGURA 3.15 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA PROPOSTO

FONTE: O autor (2009)

3.4.2.1 Descrição do sistema do reator termohidrolisador (RT)

O reator termohidrolisador (Figura 3.16) constitui-se de uma mesa com sistema de controle térmico, por meio de um sensor posicionado em um recipiente que contém o lodo de esgoto. Este sistema opera com gradiente de temperatura de $\pm 1^\circ\text{C}$.



Legenda: 1 = mesa com sistema de controle térmico; 2 = painel digital; 3 = micro-lâmpada; 4 = botão liga-desliga a mesa com o sistema de programação do controle térmico; 5 = botão liga-desliga o alarme; 6 = sensor de temperatura; 7 = agitador em pá; 8 = termômetro; 9 = alça do agitador em pá; 10 = Suporte para o agitador em pá; 11 = botão liga-desliga – pá do agitador; 12 = ventilador; 13 = reator; 14 = mesa do sistema de aquecimento térmico.

FIGURA 3.16 - REATOR TERMOHIDROLISADOR (RT)

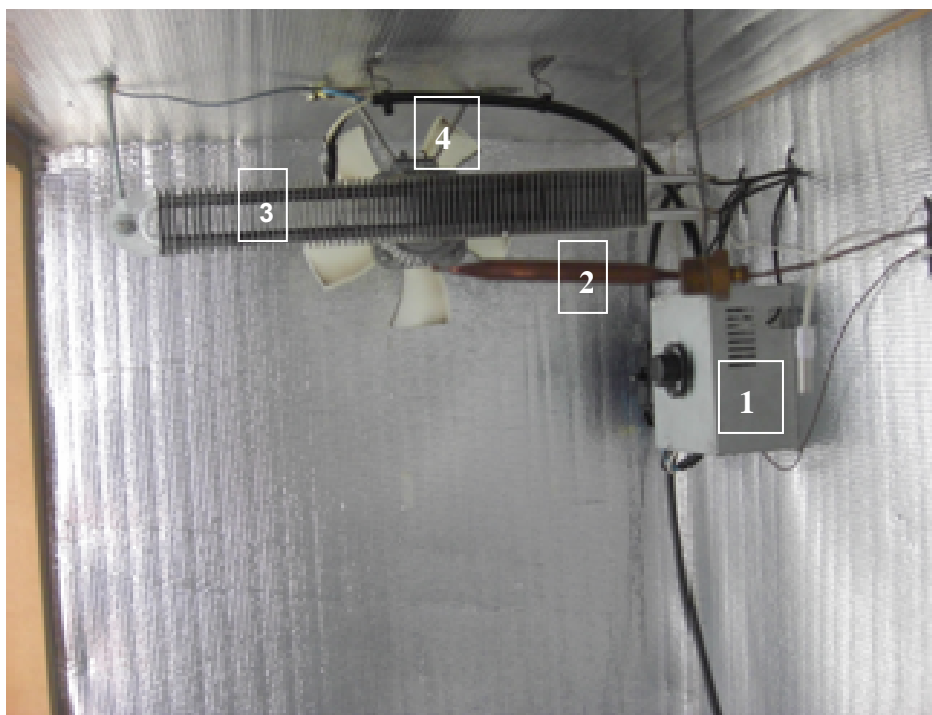
FONTE: O autor (2009)

Toda visualização do sistema de controle térmico é digital, o que diminui a margem de erro para a leitura da temperatura. Para completar o sistema de aquecimento, foi projetada e instalada uma mesa constituída por uma placa de aquecimento e um dispositivo liga-desliga, acoplado a um “led” para o controle do aquecimento da placa. A função desta placa é fornecer temperatura constante e uniforme à massa de lodo a ser termohidrolisada.

3.4.2.2 Descrição do sistema de reatores UASB

Para garantir a manutenção da temperatura específica para o desenvolvimento deste estudo (35°C), conforme Figura 3.17, o sistema experimental foi instalado em uma caixa térmica.

Após o pré-tratamento térmico o lodo é conduzido por bomba dosadora peristáltica Milan, modelo 202-1680, ao reator de hidrólise RH. Devido à necessidade de baixa vazão, a bomba peristáltica opera com um controlador de ativação do sistema, que ativa o funcionamento da bomba por 3 segundos a cada minuto. Em seguida, o efluente do reator RH é conduzido ao reator RM. Parte do efluente de reator RM é descartado, em P4, e parte é recirculado ao reator RH, por bomba peristáltica Cole-Parmer, modelo 7553–80, associado ao condutor o sentido de fluxo, Masterflex Cole-Parmer, modelo 7553–71 (Figura 3.15, 3.18 e 3.19).

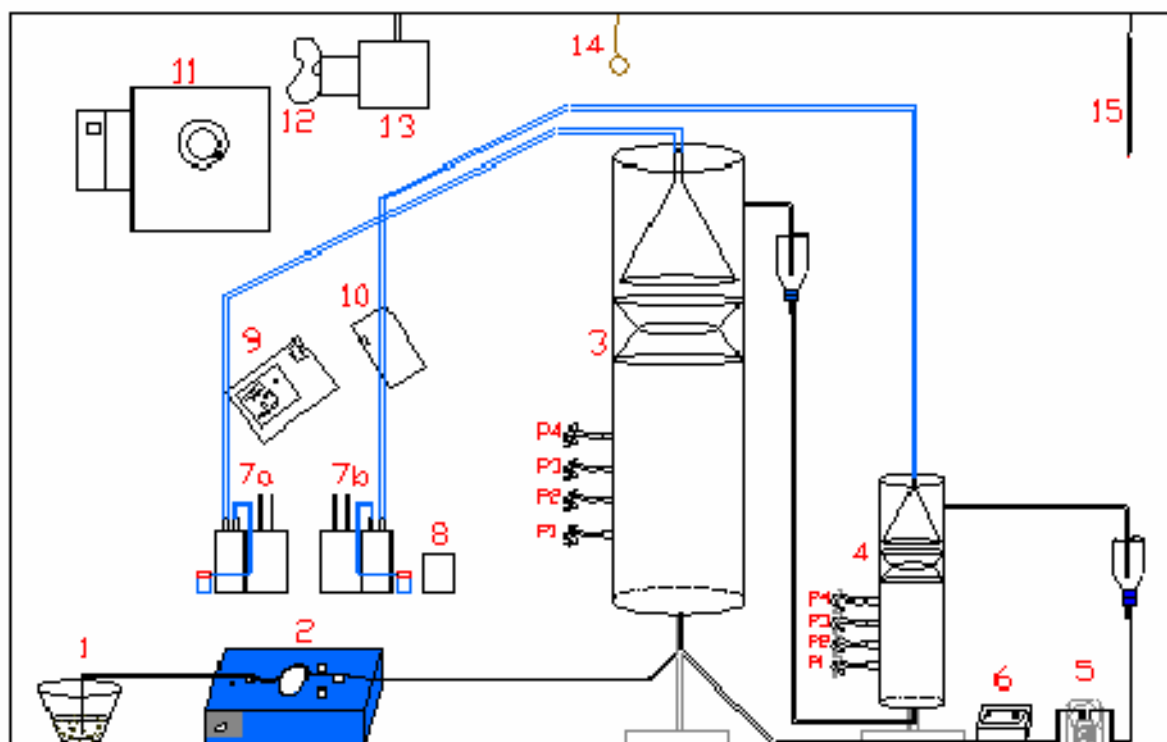


Legenda: 1 = termostato para controle de temperatura; 2 = sensor de temperatura; 3 = resistência de calor; 4 = ventilador.

FIGURA 3.17 – VISTA INTERNA DA CAIXA TÉRMICA, COM DETALHES DO SISTEMA DE CONTROLE DE TEMPERATURA

FONTE: O autor (2009)

Os reatores foram confeccionados em acrílico. O reator RH possui volume útil de 7,4L, com 60 cm de altura e 14 cm de diâmetro, enquanto o reator RM possui volume útil de 1,9L, com 45 cm de altura e 8,1 cm de diâmetro (Figuras 3.19 e 3.20).



Legenda: 1 = alimento do reator; 2=bomba dosadora peristáltica - Milan; 3= reator de hidrólise (RT); 4= reator metanogênico (RM); 5= bomba peristáltica Cole-Parmer; 6= condutor do sentido de fluxo da bomba, Masterflex Cole-Parmer; 7a= sistema de controle para a medição de gás do reator de hidrólise (RT); 7b= sistema de controle para adição de gás o reator metanogênico (RM); 8= bateria do sistema de medição do gás; 9= circuito eletrônico; 10= *datalogger*; 11= termostato para controle de temperatura; 12= ventilador; 13= resistência de calor; 14= sensor da temperatura; 15= termômetro.

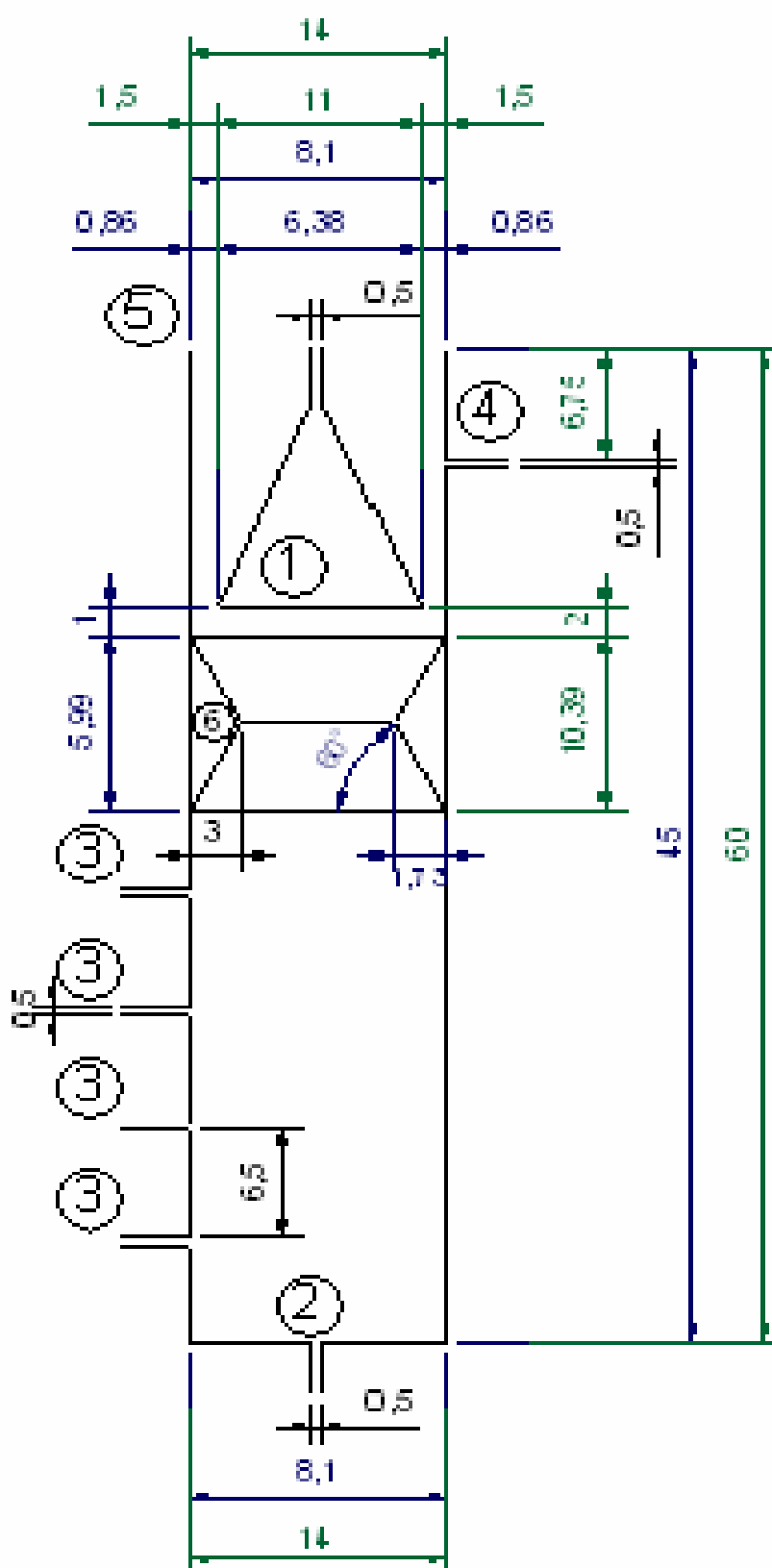
FIGURA 3.18 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO FLUXO DO SISTEMA DE TRATAMENTO BIFÁSICO EMPREGADO

FONTE: O autor (2009)



FIGURA 3.19 – APRESENTAÇÃO DO SISTEMA OPERACIONAL

FONTE: O autor (2009)



Legenda: 1 = funil comercial; 2 = entrada de efluente; 3 = pontos de coleta; 4 = saída do efluente; 5 = tampa removível; 6 = desviador do gás.

FIGURA 3.20 – GEOMETRIA DOS REATORES UASB (RH E RM)

FONTE: O autor (2009)

3.4.2.3 Automação do sistema de medição de gás

O equipamento possui dois sistemas iguais de medição de gás, um para RH e outro para RM, conforme apresentado na Figura 3.21.

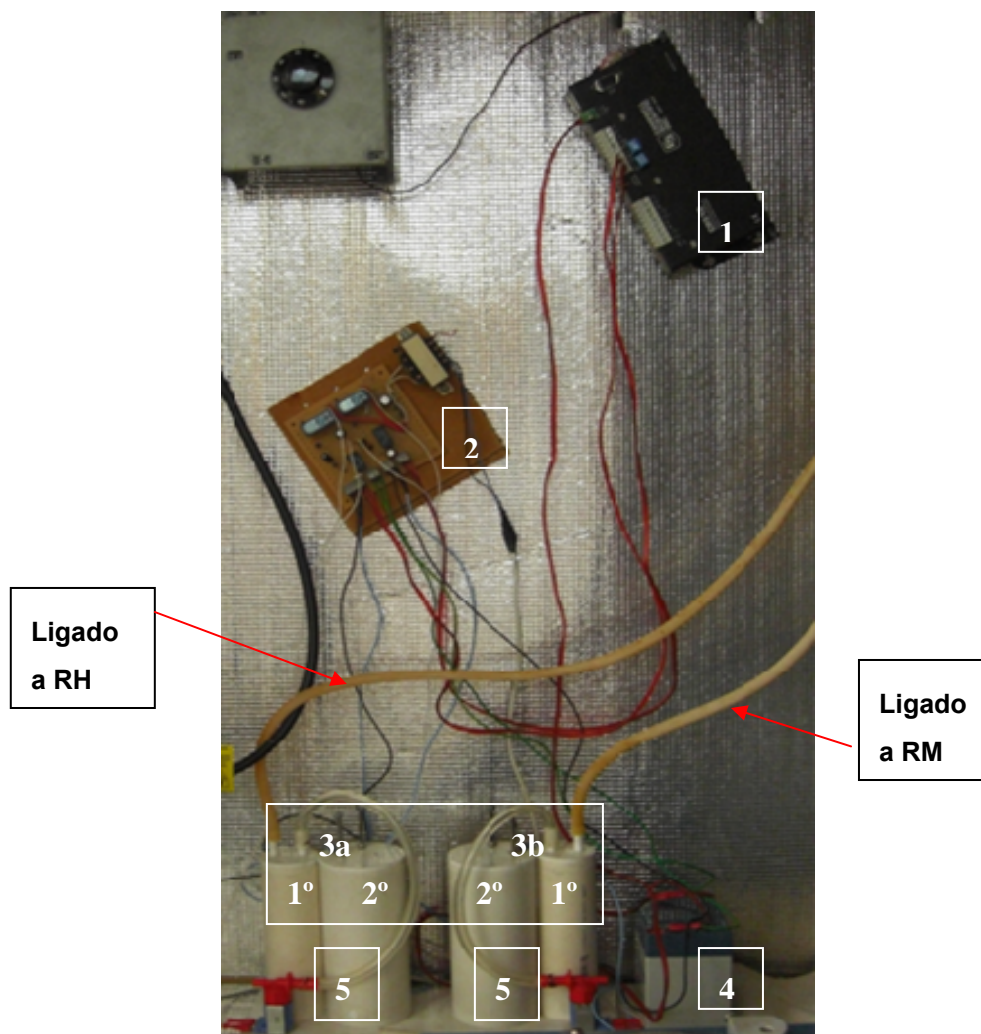
O princípio de funcionamento do sistema de medição de gás é baseado na captação do pulso de gás de cada reator que ativa um sistema constituído por um circuito eletrônico e um controlador de registros, Basic Datalogger, modelo CR510 Campbell Scientific Inc. A este sistema estão associados dois conjuntos de frascos de PVC cada, preenchidos com água e conectados aos reatores RH e RM (Figura 3.21, 3a e 3b). Estes conjuntos, a partir daqui, serão denominados “colunas de gás 1 e 2”, CG1 e CG2, respectivamente relacionados aos reatores RH e RM.

CG1 e CG2 possuem duas saídas no topo, uma conectando ao reator e outra a uma válvula solenóide. Por exemplo, o gás produzido em RH pressiona o volume de água em CG1-1^a, que comunica, pela parte inferior, com CG1-2^a, empurrando para cima o volume desta última. No topo de CG1-2^a, estão ligados dois eletrodos, um submerso no fluido e outro acima do nível calibrado de fluido. Quando é produzido um volume suficiente de gás, para deslocar o volume de água em CG1-2^a, de forma a entrar em contato com a extremidade do eletrodo, um circuito eletrônico de comando e um pulso de gás é medido. Logo após a contagem do pulso, a válvula solenóide é acionada para liberar o gás armazenado em CG1-1^a. Assim que o gás é liberado o equilíbrio entre as duas colunas (CG1-1^a e CG1-2^a) é restaurado e o sistema está pronto para medir outro pulso de gás.

O registro do volume de gás produzido em RH é realizado em um *datalogger*, que armazena a informação em memória. Por calibração, a cada 15 minutos é registrado um acionamento, e cada pulso equivale a um volume de 5 mL de gás. Assim, o espaço entre o nível de água em CG1-2^a é calibrado para receber 5 mL de gás produzidos em RH, suficientes para tocar o eletrodo não submerso e acionar o sistema eletrônico de contagem de pulsos.

O histórico da produção de gás é recuperado do *datalogger* por um microcomputador *palm top* Toshiba, Libretto 70CT, que, por programação específica, armazena a informação de um determinado período em planilha MS ExcellTM.

A manutenção do fornecimento de energia elétrica para o sistema é garantida por uma bateria Power Sonic, modelo OS-1250F1. O mesmo procedimento foi adotado para a medição do gás produzido em RM.



Legenda: 1 = sistema da coleta de dados para o medidor de gás; 2 = sistema elétrico do medidor de gás; 3 = sistema e coleta de gás dos reatores, 3a – RT e 3b – RM, 1º coluna e 2º coluna; 4 = bateria; 5 = válvula solenóide.

FIGURA 3.21 – SISTEMA PARA MEDIÇÃO DE GÁS

FONTE: O autor (2009)

3.5 INOCULAÇÃO E ALIMENTAÇÃO DOS REATORES UASB

A cultura de microrganismos anaeróbios utilizada como inóculo do sistema de digestão anaeróbia de lodo foi obtida de um reator anaeróbio piloto, instalado na ETE-Belém (Figura 3.1).

O sistema concebido para este estudo era composto por dois reatores UASB, conforme apresentado anteriormente, um deles para a degradação da matéria orgânica pré-hidrolisada termicamente (RH) e, o outro (RM) para digerir a matéria orgânica remanescente e avaliar a potencial produção de biogás.

Os reatores RH e RM foram inoculados com um volume de lodo anaeróbio equivalente a um terço dos seus volumes úteis, e aclimatados à temperatura de 35°C por um período de repouso de 24 horas. Em seguida, foi iniciada a alimentação do reator RH, com uma taxa de aplicação de sólidos igual a 2,6 kg STV/m³.d (2,4 kg STT/m³.d), considerado de alta taxa conforme recomendado pela Norma Brasileira NBR 12.209/09 (ABNT, 2009) e, também, adotado por Chernicharo (2007) e Jordão e Pessoa (2009), pela base do reator, com lodo misto (produzido conforme apresentado na Seção 3.1.1), pré-tratado termicamente (conforme apresentado na Seção 3.1.2, após definição da relação tempo *versus* temperatura). Esta etapa é considerada a mais importante da operação do reator, para evitar, neste estágio, qualquer choque térmico ou de carga orgânica. O reator foi alimentado de maneira contínua até atingir o preenchimento do seu volume total, no nível dos vertedores do decantador.

Após o preenchimento, houve um novo período de repouso, sem alimentação por 24 horas, para que fosse garantida a adaptação dos microorganismos inoculados às condições operacionais. Ao término deste período, foi coletada uma amostra para análise das variáveis conjunto de sólidos totais, relação α e pH, para avaliação e acompanhamento do desempenho do reator.

Para a continuidade da alimentação do reator, para cada taxa de aplicação, os resultados das variáveis analisadas devem indicar, principalmente, manutenção da relação α , que deve estar abaixo de 1; pH estável, na faixa de 6,2 a 7,8 e redução da concentração de matéria orgânica, como DQO solúvel e bruto.

O lodo para alimentação contínua do reator RH foi preparado de acordo com as concentrações de sólidos totais e totais voláteis, em função da relação STV/STT (%V/T), que deve estar acima de 0,5, considerada normal, ligeiramente alta (NOYOLA *et al.*, 2007). Salientando que esta proporção é relativa à composição do lodo misto, preparado conforme apresentado na Seção 3.1.1. Para manter a composição do lodo homogênea, foram preparadas bateladas de 7 litros, suficientes para a alimentação diária de 1,2 L (NOYOLA *et al.*, 2007), em cada taxa de aplicação. Estas bateladas foram mantidas refrigeradas a 4°C, para que suas características não fossem alteradas.

Para o cálculo da taxa de aplicação foi adotada a Equação (3.5).

$$C.O. = \frac{(Q) \cdot (STV)}{(V)} \quad (\text{Kg.STV/m}^3.\text{d}) \quad (4.5)$$

Em que:

C. O.: taxa de aplicação orgânica (kg.STV/m³.d)

Q: vazão (m³/d)

STV: concentração de sólidos totais voláteis (kg STV/m³)

V: volume do reator (m³)

Para o desenvolvimento desta pesquisa, além da taxa inicial de trabalho, no reator RH, também foram realizados testes com a taxa de aplicação de 2,6 kg STV/m³.d (2,4 kg ST/m³.d) a 5,7 kg STV/m³.d (6,5 kg ST/m³.d).

Após a complementação do volume do reator RH, foi iniciada a operação do reator RM e, com a complementação do seu volume foi iniciada a recirculação do sistema. Este reator foi alimentado com o efluente do reator RH e, para a avaliação da sua performance, foram analisadas as variáveis DQO total e solúvel, na saída do reator RH (entrada do reator RM) e na saída do reator RM; a relação α , o pH e atividade metanogênica específica.

Em função das condições operacionais, após um período de 30 dias foi realizado o primeiro descarte de lodo do reator RH, em S1, S2, S3 e S4, tendo sido determinado o perfil de concentração para o conjunto de sólidos totais. Estas análises foram realizadas a partir de um volume de 300 mL lodo de descarte, conforme especificado anteriormente por Noyola *et al.* (2007). No reator RM, não houve descarte do lodo.

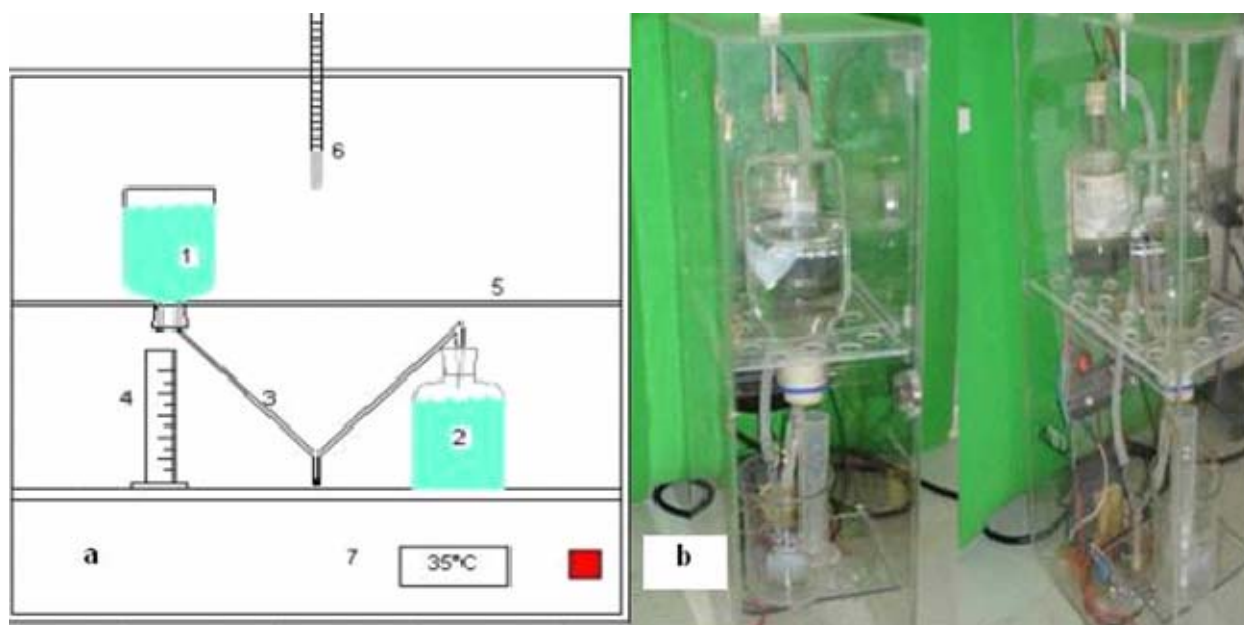
A taxa de recirculação de lodo foi de 250 mL/h. O processo de recirculação do lodo é importante para se ter uma elevada concentração de sólidos no reator e uma idade do lodo maior que o tempo de detenção hidráulica.

3.6 ATIVIDADE METANOGENÉTICA ESPECÍFICA

A atividade metanogênica específica (AME) é definida como a quantidade de substrato convertido em metano, por unidade de massa de lodo por unidade de tempo, e é expressa como:

$$ACH_4 = \frac{gDQO}{gSSV \cdot d} \quad (3.6)$$

A atividade metanogênica foi realizada conforme metodologia especificada pelo Manual de Técnicas de Laboratório, Coordenação de Bioprocessos Ambientais, Instituto de Engenharia (CBA, 1990). Este procedimento experimental foi realizado no Laboratório de Engenharia Ambiental Prof. Francisco Borsani Netto – LABEAM / UFPR, LABEAM, como apresentado na Figura 3.22.



Legenda: a) representação esquemática do sistema da atividade metanogênica específica; 1 – garrafa de 500 ml contendo NaOH; 2- garrafa de 500 ml contendo o equivalente a 4 gSSV de lodo, água destilada e 10 ml de ácido acético; 3 - mangueira de conexão entre as garrafas 4 – proveta graduada de 25 ml, 5 – suporte para a garrafa com NaOH; 6 – termômetro químico; 7 – estufa com temperatura estável de 35°C; b) estufa para o ensaio da atividade metanogênica específica

FIGURA 3.22 – SISTEMA PARA A DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE METANOGENÉTICA ESPECÍFICA

FONTE: Weber (2006)

Este sistema é composto por duas garrafas com volume de 500 mL. Uma garrafa contém solução de hidróxido de sódio 1N, com traços de solução de fenolftaleína para indicação de alterações de pH. Outra garrafa, disposta na posição

invertida, contém 10 ml de ácido acético e 250 ml de água destilada fervida e resfriada. Tomando cuidado para não aerar, a garrafa 1 foi adicionado um volume equivalente a 4g SSV/L. Também foram adicionados 0,5 mL de solução de macronutrientes e 0,5 mL de solução de micronutrientes. O volume desta garrafa foi complementado para 500 mL com água destilada e deionizada. Em ambas as garrafas foram conectadas rolhas de borracha com seringas inseridas. As duas garrafas foram conectadas por dois trechos de mangueira de látex (ϕ interno = 0,75mm), ligados por um tubo de vidro em “Y” com o fundo vedado. O sistema foi incubado a 35°C, com anotação do volume deslocado de NaOH (garrafa 1), até que não fosse mais observado o gotejamento da solução.

Para a realização do experimento foi determinada a força do lodo a ser inoculado na garrafa 2 (SSV/SST). Em seguida, em função da concentração de sólidos suspensos voláteis, foi determinado um volume de lodo equivalente a 1g de sólidos voláteis.

O volume da garrafa 2 foi preenchido com um volume de lodo determinado conforme especificado acima, 10 mL de ácido acético, 1 mL de micronutrientes e 1 mL de macronutrientes, e completado o volume até 500 mL com água destilada e deionizada de acordo com CBA.

A atividade metanogênica específica foi determinada pela Equação (3.7).

$$A_{CH_4} \cdot = \frac{(M) \cdot (24)}{(F_C) \cdot (M_{SSV})} \quad (3.7)$$

em que:

A_{CH_4} : atividade metanogênica (g CH₄ DQO/g SSV d)

M: velocidade de produção de metano (CH₄/d)

24: fator de conversão de horas para dias

F_C : fator de conversão de mL de metano para grama de DQO em mL de CH₄/g DQO

M_{SSV} : massa de lodo (g SSV)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados do desenvolvimento experimental do tratamento térmico do lodo misto de ETE, baseado na combinação de tempo *versus* temperatura, aplicado a um reator termohidrolisador, seguido de dois reatores UASB, um de hidrólise (RH) e outro de metanização (RM). Estes resultados serão utilizados para avaliar a higienização do lodo de esgoto de acordo com especificações da Resolução CONAMA nº 375/06 para o enquadramento visando a aplicação na agricultura.

Os resultados obtidos permitiram observar ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras dos lodos brutos (primário e secundário), lodo misto, e nas combinações de temperatura *versus* tempo adotadas.

4.1 PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO DO LODO MISTO

Para a especificação das condições de tratamento térmico foi avaliada a relação temperatura *versus* tempo, conforme apresentado no Quadro 3.1 (Capítulo 3). Em função dos resultados obtidos, foi observado que o tratamento térmico pela exposição a três temperaturas (50°C, 60°C e 70°C) não permitia decidir sobre a melhor condição de trabalho, principalmente entre as temperaturas de 60°C e 70°C, isto é, aquela que mais efetivamente eliminava os ovos viáveis de helmintos. Portanto, para apoiar a tomada de decisão, os dados obtidos foram submetidos ao estudo na análise da variância.

Entretanto, cabe salientar que o pré-tratamento térmico adotado foi responsável pela inativação de patógenos nas amostras de lodo de esgoto, conforme detalhamento a seguir. Os resultados obtidos corroboram resultados de outros estudos, em que o tratamento térmico garantiu a eliminação de parasitas e bactérias em lodo de esgoto aplicado na agricultura (CARRINGTON, 2001; MULLER, 2001; GAVALA *et al.*, 2003; LU *et al.*, 2007; NOYOLA *et al.*, 2007; MAYA *et al.*, 2008; ARCE, 2009). O pré-tratamento térmico também influenciou a concentração dos sólidos, os resultados apresentados estão de acordo com aqueles produzidos por Arce (2009).

Os resultados do tratamento térmico são apresentados na Tabela 4.1.

TABELA 4.1 – VARIÁVEIS ANALISADAS PARA LODO BRUTO E HIDROLISADOS

Temperatura versus Tempo	STT(*) (g/L)	STV(*) (g/L)	STF(*) (g/L)	STV/STT (%)	Contagem de ovos viáveis	Ovos viáveis/gST	Coliformes Totais (NMP/gST)	Coliformes Termotolerantes (NMP/gST)	pH	Alc 5,75	Alc 4,3
	Lodo Bruto										
	44,23	32,17	12,05	73	37,66	0,67	$0,1 \times 10^5$	$0,8 \times 10^3$	7,2	811,8	1722,6
	Lodo tratado termicamente										
50°C/30 min	39,94	30,31	9,63	76	34,88	0,62	$0,5 \times 10^3$	$0,4 \times 10^3$	7,2	809,8	1698,8
50°C/60 min	40,71	30,90	9,81	76	28,88	0,62	$0,1 \times 10^3$	$0,8 \times 10^3$	7,3	770,2	1980,0
50°C/90 min	50,74	35,25	15,48	69	25,81	0,61	$0,3 \times 10^2$	$0,8 \times 10^2$	7,6	801,9	2154,2
60°C/30 min	45,59	33,50	12,09	73	26,55	0,53	$0,2 \times 10^2$	$0,6 \times 10^1$	7,1	724,7	1789,9
60°C/60 min	46,67	34,27	12,39	73	15,70	0,30	$0,2 \times 10^1$	0,8	7,5	778,1	2077,0
60°C/90 min	47,88	36,04	11,84	75	14,38	0,30	0,1	$0,3 \times 10^{-2}$	7,5	750,4	2176,0
70°C/30 min	45,02	32,60	12,43	72	20,36	0,35	3×10^{-2}	6×10^{-3}	7,4	896,9	2112,7
70°C/60 min	47,26	34,54	12,72	73	13,97	0,30	5×10^{-3}	5×10^{-4}	7,6	914,8	2241,4
70°C/90 min	62,39	45,05	17,34	72	13,93	0,30	3×10^{-3}	4×10^{-4}	7,5	902,9	2742,3

Nota: (*) concentração de sólidos totais para lodo misto

FONTE: O autor (2009)

4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PRÉ-TRATAMENTO TÉRMICO

Como pode ser observado na Tabela 4.1 e Figura 4.1, principalmente em relação aos ovos viáveis de helmintos, por si os resultados obtidos não permitiram decidir sobre a melhor condição operacional de termohidrólise. As temperaturas de 60 °C e 70 °C, por 60 e 90 minutos de exposição, mostraram-se efetivas, com eliminação praticamente idêntica de ovos viáveis de helmintos. Portanto, para a continuidade do estudo e para apoiar a tomada de decisão, foi necessário aplicar testes estatísticos, tendo sido aplicado ANOVA com teste de *Tukey*.

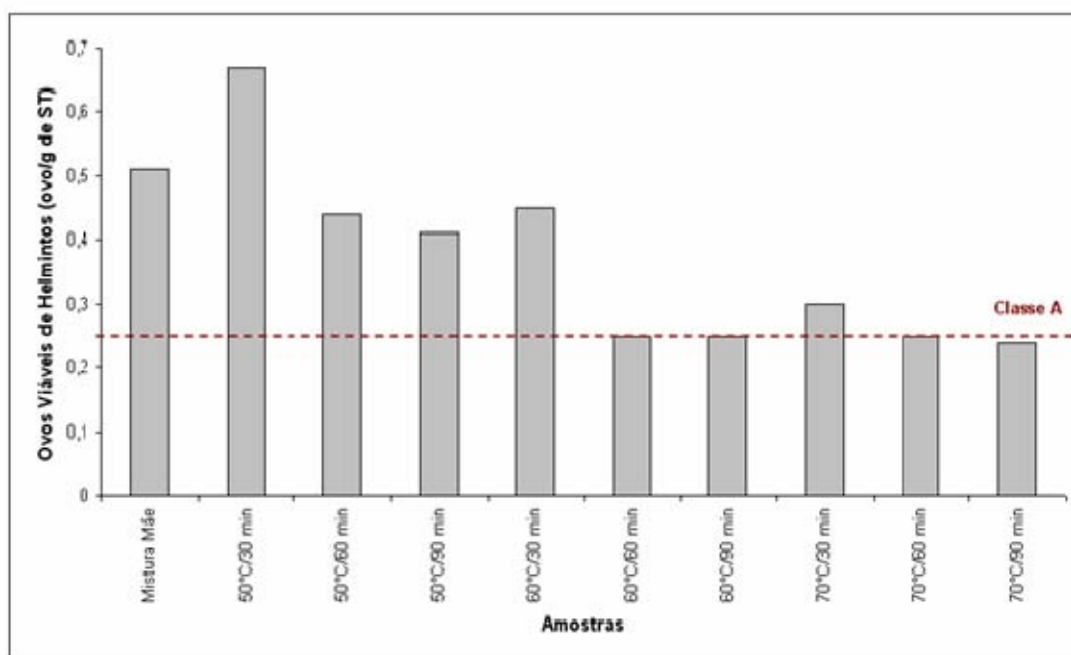


FIGURA 4.1 – RESULTADOS DA MÉDIA DE INATIVAÇÃO DE OVOS VIÁVEIS DE HELMINTOS COMPARADOS À ESPECIFICAÇÃO DA RESOLUÇÃO CONAMA nº 375/06 PARA LODO CLASSE A

FONTE: O autor (2009)

Entretanto, como pode ser observado na Figura 4.2, as diferenças dos resultados apresentaram-se estatisticamente não significativos, portanto, visando economizar tempo e energia, optou-se pela adoção da relação 60 °C por 60 minutos.

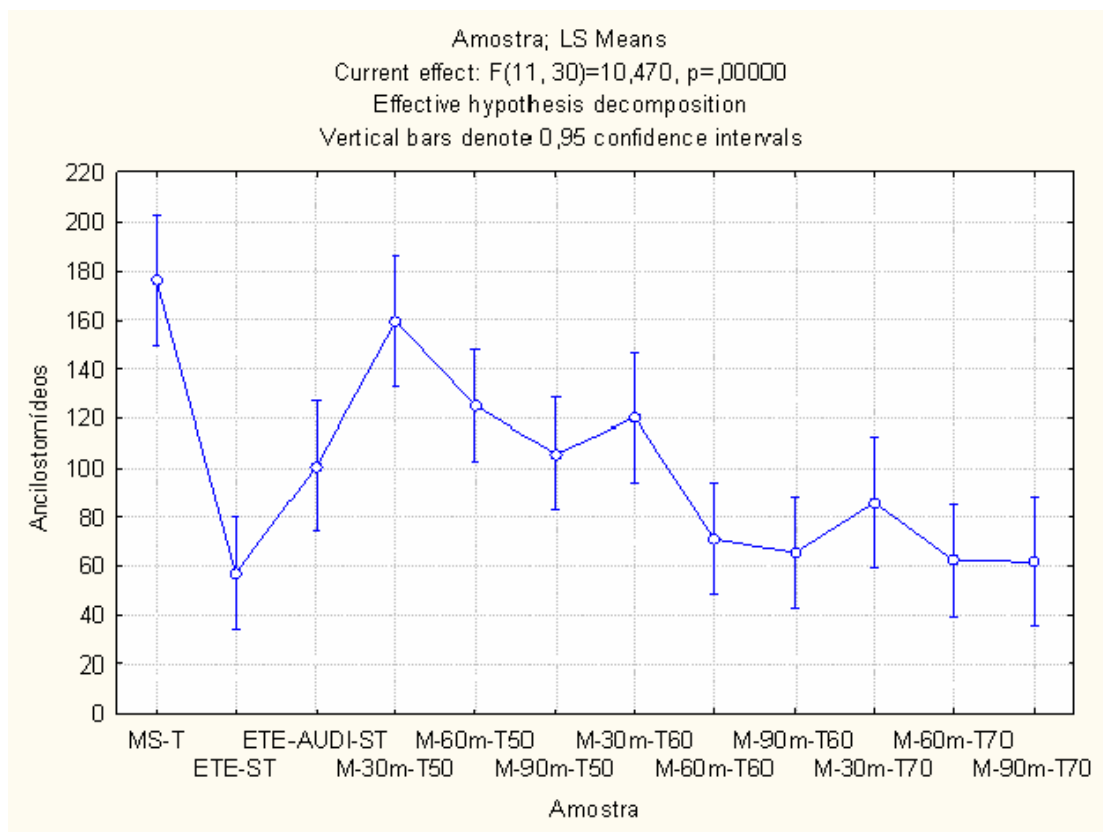


FIGURA 4.2 – TESTE DE TUCKEY PARA COMBINAÇÃO DE TEMPO *versus* TEMPERATURA PARA OVOS DE ANCILOSTOMÍDEOS

FONTE: O autor (2009)

Visando obter respostas consistentes em relação aos resultados produzidos, foram utilizadas como ferramentas estatísticas as análises de componentes principais (PCA) e de correlação de *Pearson*, conforme apresentado nas Figuras 4.3 e 4.4, respectivamente.

Para esta análise, as matrizes de dados formadas pelas médias dos valores de pH, alcalinidade (alc a pH= 4,3; alc a pH= 5,75), conjunto de sólidos totais (totais, fixos e voláteis), número de ovos viáveis de helmintos por grama de sólido total e coliformes totais e termotolerantes foram utilizadas como dados de entrada em contraposição aos tratamentos térmicos dos lodos testados. A variância percentual acumulada encontrada na análise estatística do lodo e determinada pelos dois primeiros componentes principais foi de 77%. Nas Figuras 4.3 e 4.4 são apresentados, respectivamente, os pesos e os escores para os dois primeiros componentes principais das médias dos dados das amostras brutas e tratadas termicamente. Os resultados obtidos mostram a correlação negativa entre os parâmetros ovos viáveis de helmintos e pH ($r = -0,6521$, $p = 0,041$). Este resultado

confirma a eficiência do pré-tratamento por termohidrólise em relação à remoção de ovos viáveis de helmintos presentes no lodo de esgoto (ALMEIDA *et al.*, 2006). Uma correlação positiva significativa ($r = 0,7092$, $p = 0,021$) foi encontrada entre os ovos viáveis de helmintos e os coliformes totais e termotolerantes, conforme esperado, pois de acordo com vários autores o lodo de esgoto sanitário é destino final do ciclo biológico da maior parte dos organismos patogênicos que afetam o homem (REY, 1991; SOCCOL *et al.*, 1997; CARRINGTON, 2001; MAYA *et al.*, 2002; SILVA, 2008).

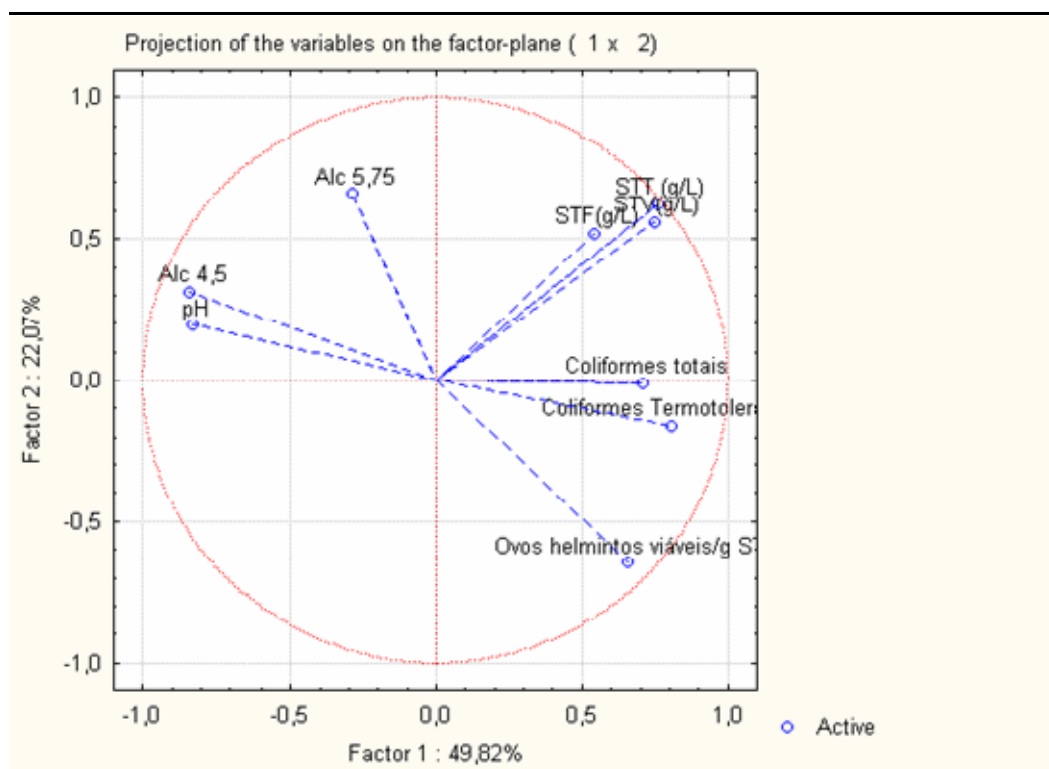
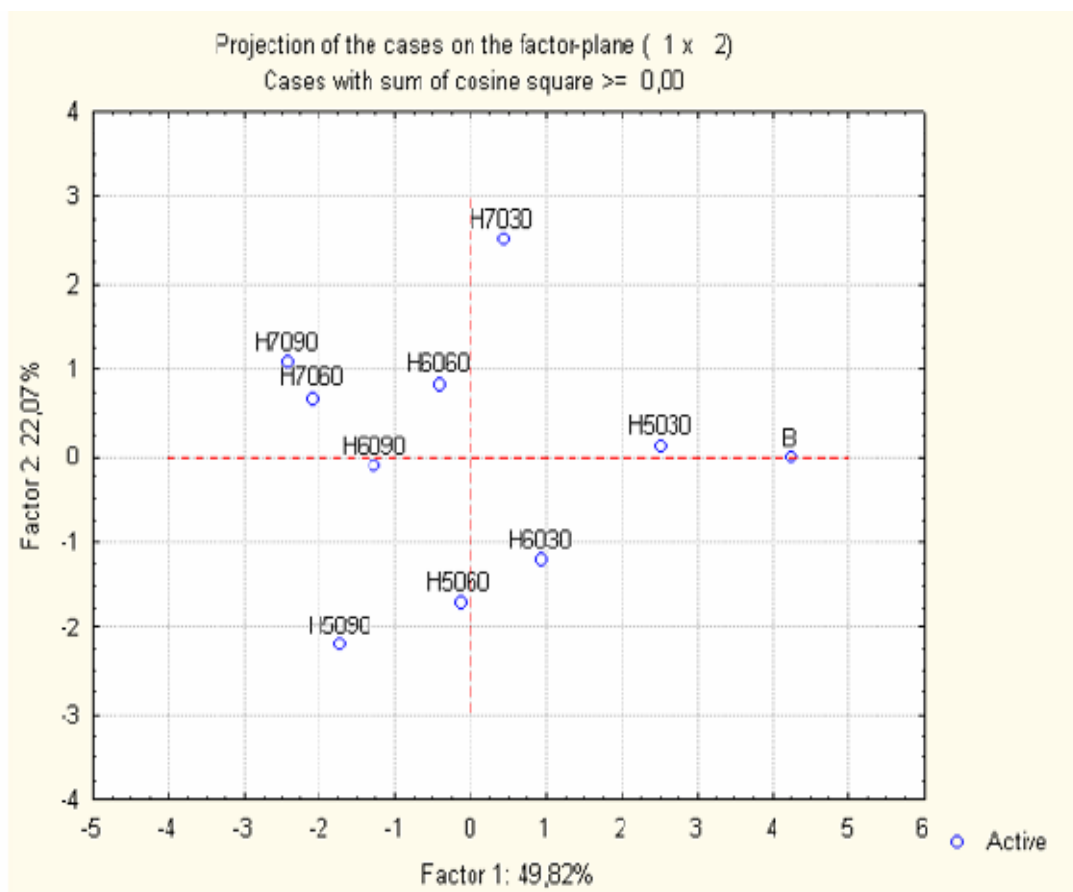


FIGURA 4.3 – PESOS PARA AS AMOSTRAS DE LODO BRUTO E HIDROLISADO TERMICAMENTE

FONTE: O autor (2009)

Os resultados obtidos pela técnica de PCA colocaram a amostra H7090 como aquela com o menor número de ovos viáveis de helmintos, entretanto, a distância em relação à amostra H6060, no eixo da componente principal 1, é pequena, sendo quase nula no eixo da componente principal 2. Desta forma, esta análise também permite considerar o uso da relação 60°C por 60 minutos de exposição como a relação temperatura *versus* tempo mais viável e eficaz na remoção de patógenos presentes em lodos de esgoto doméstico.



Legenda: B = lodo bruto; H5030 = 50°C/30'; H5060 = 50°C/60'; H5090 = 50°C/90'; H6030 = 60°C/30'; H6060 = 60°C/60'; H6090 = 60°C/90'; H7030 = 70°C/30'; H7060 = 70°C/60'; H7090 = 70°C/90'

FIGURA 4.4 – ESCORES PARA AS AMOSTRAS DE LODO BRUTO E HIDROLISADO ESTUDADAS

FONTE: O autor (2009)

4.3 ANÁLISE PARASITOLÓGICA APÓS O TRATAMENTO TÉRMICO

Os testes de viabilidade dos ovos de helmintos apresentaram, em média, 86% de Ancilostomídeos, 12% de *Ascaris* sp. e 2% dos demais ovos de helmintos nas amostras de lodo sem tratamento. Após o tratamento, não foi observada a eliminação total de ovos. Entretanto, a cada combinação de temperatura e tempo a que foram submetidas às amostras de lodo, houve redução do número de ovos presentes, conforme apresentado na Tabela 4.1.

Os resultados produzidos por esta pesquisa permitiram observar que a exposição das amostras a baixas temperaturas e/ou curtos períodos de tempo não é eficiente em termos de eliminação de ovos viáveis de helmintos e coliformes termotolerantes, o que está de acordo com resultados de outros autores (NOYOLA *et al.*, 2007; MAYA *et al.*, 2008; ARCE, 2009).

Como pode ser observado, a concentração de ovos viáveis de helmintos apresentou como resultado médio para a relação temperatura *versus* tempo adotada (60°C e 60 min), aproximadamente, 0,30 ($\pm 0,5$) ovos/gST, podendo ser considerado como de acordo com a especificação da Resolução CONAMA nº 375/06, de 0,25 ovos/gST.

Em estudo recente, Arce (2009) determinou como valores adequados para a higienização do lodo a combinação de 70 °C por 90 minutos, justificada pelo maior dano observado à membrana dos ovos de helmintos. Entretanto, segundo Maya *et al.* (2008), a manutenção da temperatura de 60 °C permite uma taxa exponencial de perda de água ao longo do tempo, que leva à dessecação e dano permanente dos ovos de helmintos.

O dano à membrana dos ovos de helmintos não é homogêneo. O gênero *Ascaris* é um grupo cujos ovos são extremamente resistentes a variações de temperatura e ataques químicos (SOCCOL *et al.*, 2000; BARROS *et al.*, 2006). Desta forma, encontrar um tratamento térmico eficiente pode significar diminuição de custos para a higienização de biossólidos.

4.4 ANÁLISE DOS PROCEDIMENTOS PARASITOLÓGICOS PARA LODOS DE ESGOTO

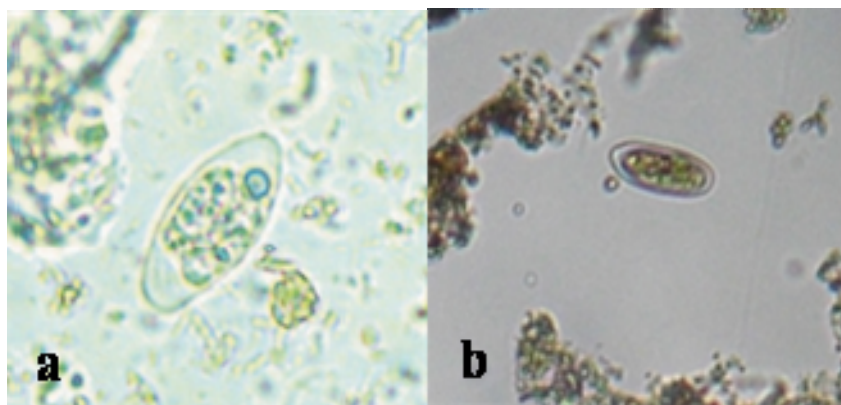
Das tentativas de implementação do método de Yanko modificado, conforme apresentado por Soccol *et al.* (2000), foi possível identificar alguns procedimentos que interferiam na acuracidade e reproducibilidade das respostas obtidas para a contagem e identificação de ovos viáveis de helmintos. Foi observado, por exemplo, que a densidade do ZnSO_4 recomendada pelo método não possibilitava a identificação e contagem de *Taenia* sp., pois a densidade deste organismo é 1,30, e a densidade do sulfato de zinco adotado pelo método de Yanko modificado é 1,20. Após esta alteração foi possível identificar e contar com maior facilidade estes organismos, além de ter possibilitado a contagem de maior número de outros organismos, como por exemplo, Ancilostomídeos, *Ascaris* sp e *Trichuris* sp.

Cabe salientar que, para corroborar os resultados desta pesquisa, o levantamento bibliográfico permitiu referenciar autores como, por exemplo, Coelho *et al.* (2002); Maya *et al.* (2002), além da norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Coelho *et al.* (2002) e Maya *et al.* (2006) investigaram as diversas técnicas aplicadas para quantificação de ovos de helmintos em águas

residuárias e lodo de esgoto. Em seus estudos também foi determinada como adequada a densidade 1,30 para a solução de sulfato de zinco.

Segundo Carrington (2001), a identificação dos ovos de helmintos e cistos de protozoários é complexa e a viabilidade é de difícil determinação, o que é corroborado pelas observações de Silva (2008), que afirma ser necessário avaliar as técnicas utilizadas para a recuperação, quantificação e identificação de ovos de helmintos em lodo de esgoto, pois a velocidade de sedimentação dos diferentes tipos de helmintos é diferente e, portanto, depende das condições de experimentais.

Portanto, com base nas informações obtidas, foi possível adequar os procedimentos utilizados, sendo que, como um dos resultados, foi possível contar ovos viáveis de helmintos, anteriormente não identificados. Cabe salientar que as alterações do método permitiram, também, visualizar oocistos de protozoários, como por exemplo, *Isispora* sp, conforme apresentado na Figura 4.5b.



Legenda: a) Ovo de *Isispora belli* (OMS, 2007); b) Ovo de *Isispora* sp (Fonte: o autor); c) e d) *Cyclospora cayetanensis* (OMS, 2007), e) *Cryptosporidium parvum* (OMS, 2007)

FIGURA 4.5 – *Isispora* sp, OBSERVADO E DE REFERÊNCIA

FONTE: O autor (2009)

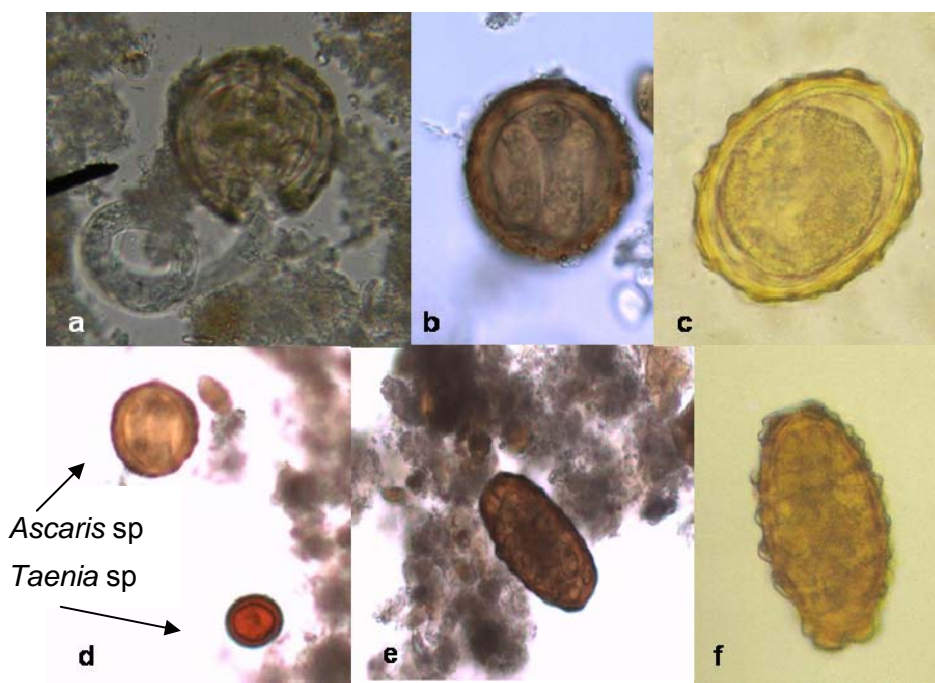
Finalmente, as alterações implementadas favoreceram a produção de resultados obtidos com maior eficiência para a qualificação e a quantificação de ovos viáveis de helmintos no lodo de esgoto para uso agrícola, o que o torna uma ferramenta confiável para a análise de lodos visando o seu enquadramento de acordo com a Resolução CONAMA nº 375/06.

4.4.1 Leitura dos ovos de helmintos em câmara de Sedgwick-Rafter

A leitura em câmara de Sedgwick-Rafter, após o período de incubação de 30 dias, referente ao estágio de desenvolvimento embrionário dos ovos, resultou na

observação e registro de ovos viáveis e inférteis de helmintos, conforme apresentado nas Figuras 4.6 a 4.9.

Para o *Ascaris* sp. foi possível presenciar a eclosão de um ovo com a saída da larva, o que caracteriza a viabilidade, como mostra a Figura 4.6a, com aumento de 200X. A Figura 4.6b apresenta um ovo embrionado, com aumento de 400X, que pode ser comparado com a Figura 4.6c (de referência), em que podem ser observadas algumas características, como casca espessa, ovo esférico e cor castanho-amarelado (REY, 1991; JIMENEZ, sd; CIMERMAN e FRANCO, 2005; SILVA e MASSARA, 2005), fundamentais para a identificação destes ovos. A Figura 4.6d, com aumento de 100X, mostra a diferença de tamanho entre os ovos de *Ascaris* sp e de *Taenia* sp, corado por lugol, de coloração avermelhada. Segundo a OMS (2007), estas características são essenciais para a confirmação dos ovos identificados. Na Figura 4.6e, com aumento de 200X, pode ser observa um ovo infértil, confirmado em função do formato retangular, alongado, podendo ser notado no interior do ovo, grânulos grosseiros, mostrando que o ovo não foi fecundado. Segundo Rey (1991), Jimenez (sd), Cimerman e Franco (2005), Silva e Massara (2005), as granulações caracterizam o ovo infértil.

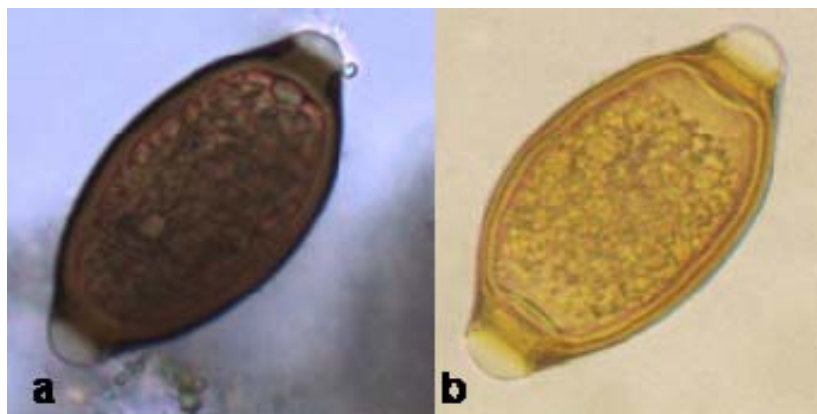


Legenda: a) ovo de *Ascaris* sp, em eclosão da larva – 200X; b) ovo de *Ascaris* sp viável – 400X; c) ovo de *Ascaris* sp (OMS, 2007); d) ovo de *Ascaris* sp, de maior tamanho com coloração castanho-amarelado e ovo de *Taenia* sp, corado de lugol (avermelhado) – 100X e) ovo de *Ascaris* sp infértil – 200X; f) ovo de *Ascaris* sp infértil (OMS, 2007)

FIGURA 4.6 – OVO DO *Ascaris* sp, OBSERVADO E DE REFERÊNCIA

FONTE: O autor (2009)

O ovo de *Trichuris* sp foi identificado em várias leituras, apresentando-se embrionado, com o formato típico de um pequeno barril, de cor castanha, apresentando dois tampões polares e duas membranas (REY, 1991; JIMENEZ, sd; CIMERMAN e FRANCO, 2005; SILVA e MASSARA, 2005), o que caracteriza a identificação destes ovos, como apresentado na Figura 4.7a. A Figura 4.7b (de referência), confirma a identificação deste ovo de helminto.

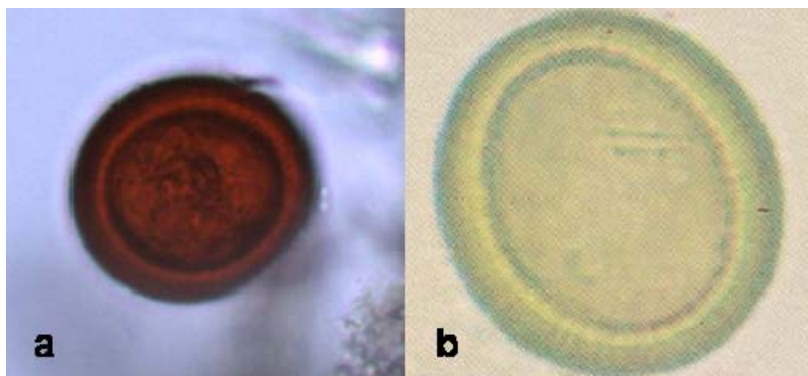


Legenda: a) ovo de *Trichuris* sp viável – 400X e b) ovo de *Trichuris* sp (OMS, 2007)

FIGURA 4.7 – OVO DO *Trichuris* sp, OBSERVADO E REFERÊNCIA

FONTE: O autor (2009)

A Figura 4.8a apresenta um ovo da *Taenia* sp corado com lugol e com aumento de 400X. Este ovo é considerado viável porque encontra-se em estágio larval (embrionário), pois, suas características morfológicas estão de acordo com a de referência (OMS, 2007), isto é, ovo esférico e dupla membrana, por exemplo (REY, 1991; JIMENEZ, sd; CIMERMAN e FRANCO, 2005; SILVA e MASSARA, 2005).



Legenda: a) ovo de *Taenia* sp viável – 400X; b) ovo de *Taenia* sp (OMS, 2007)

FIGURA 4.8 – OVO DO *Taenia* sp, OBSERVADO E REFERÊNCIA

FONTE: O autor (2009)

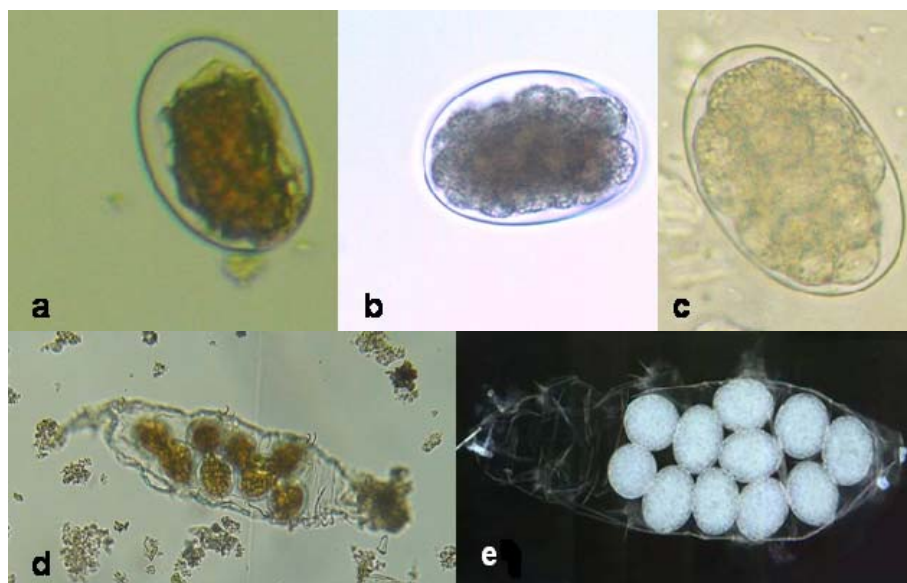
4.4.2 Falso positivo na leitura de ovos de helmintos

4.4.2.1 Tardígrada

Em amostras para a leitura de ovos viáveis de helmintos, foram encontrados também ovos de Tardígrada, que podem ser confundidos com ovos de Ancilostomídeos, como pode ser observado nas Figuras 4.9a a 4.9e, com o aumento de 100X.

Nas leituras para contagem de ovos viáveis de helmintos, ao comparar com a Figura 4.9c, imagem de um ovo do Ancilostomídeo (OMS, 2007), resultava um resultado falso positivo, pois a semelhança entre os ovos induzia à contagem do ovo de Tardígrada como ovo de Ancilostomídeo. Portanto, corroborando as afirmações de Carrington (2001), Zerbini e Chernicharo (2001) e Silva (2008), a acuidade visual é de extrema importância, pois a complexidade para a identificação dos ovos de helmintos e cistos de protozoários, e a dificuldade para a determinação da viabilidade, no período embrionário podem induzir a erros severos, que serão refletidos nos resultados finais da avaliação do lodo. A Figura 4.9b apresenta um ovo de Ancilostomídeo, com aumento de 400X, confirmando a identificação ao comparar com a Figura 4.9c, que foi utilizado para padrão de comparação para a identificação dos ovos de helmintos (OMS, 2007).

A Figura 4.9d apresenta um corpo deteriorado de Tardígrada com ovos, bastante similar à Figura 4.9e (MACH, 2009). Entretanto, deve ser salientado que a comparação não é perfeita em função das técnicas de microscopia adotadas, a Figura 4.9d é resultado de microscopia ótica, enquanto a Figura 4.9e é uma micrografia eletrônica.



Legenda: a) ovo de Tardígrada – 100X; b) ovo de Ancilostomídeo viável – 400X; c) ovo de Ancilostomídeo (OMS, 2007); d) Tardígrada, com presença de ovos de Tardígrada; e) Tardígrada com ovos, micrografia eletrônica (MACH, 2009)

FIGURA 4.9 – OVO DO ANCILOSTOMÍDEO E DE TARDÍGRADA, OBSERVADO E REFERÊNCIA

FONTE: autor (2009)

4.4.2.2 Coloração

Segundo Zerbini e Chernicharo (2001), o método de coloração biológica possibilitou a identificação de ovos viáveis (não corados), quanto de ovos não viáveis (corados). Entretanto, este método resultou aos pesquisadores, uma incerteza quanto à tonalidade de cor, uma vez que, não há um padrão de cor para avaliação dos resultados.

Maya *et al.* (2008) compararam a técnica de incubação e de coloração dos ovos de helmintos e, afirmaram a confiabilidade dos resultados para a técnica de incubação, devido ao período de exposição para o desenvolvimento embrionário. Entretanto, para a técnica de coloração, obtiveram resultados falso positivo, ao utilizar o corante Azul de Tripan em ovos de *Toxocara canis*.

Baseado nos relatos dos pesquisadores Zerbini e Chernicharo (2001) e Maya *et al.* (2008), os resultados obtidos nesta pesquisa, confirmaram a importância da necessidade do período de incubação e a utilização de coloração simples, com lugol. A utilização de contraste possibilitou a identificação dos estágios de desenvolvimento embrionário dos ovos de helmintos, o que assegurou a eficiência do método para a identificação e quantificação da viabilidade dos ovos de helmintos.

Em relação aos coliformes termotolerantes pode se afirmar que o tratamento

térmico foi eficiente. Para finalizar, os resultados que foram atingidos a partir da temperatura de 50°C a 90 minutos, apresentaram uma redução na quantidade destes microorganismos de $0,8 \times 10^3$ NMP/ g ST, no lodo bruto, para $0,8 \times 10^1$ NMP/ g ST, no lodo tratado. Nestas condições, e considerando apenas os coliformes termotolerantes, o lodo estaria de acordo com as especificações da Resolução CONAMA nº 375/06 (CONAMA, 2006).

Em função dos resultados obtidos tanto para parasitas quanto para bactérias e, principalmente, em termos de redução de ovos viáveis de helmintos, a condição experimental adotada (60°C, 60 min), torna o lodo tratado adequado às especificações da Resolução CONAMA nº 375/06 (CONAMA, 2006), para lodo classe A, para aplicação na agricultura.

4.5 REATORES DO PROCESSO BIFÁSICO

Para iniciar a partida da alimentação dos reatores RH e RM, foram adotadas as condições operacionais determinadas por NOYOLA *et al.* (2007). Como mencionado no Capítulo 3, o lodo misto utilizado para alimentação do reator RH foi tratado termicamente de acordo com as condições pré-determinadas para a relação temperatura *versus* tempo (60°C, 60min).

A seguir são apresentados os parâmetros de controle utilizados para a operação e manutenção adequada do sistema experimental dos reatores UASB RH e RM.

4.5.1 Conjunto de sólidos

Como mencionado na Seção 3.1.1, a mistura de lodos foi preparada na proporção de 60% em massa de lodo primário, ETE-Belém, e 40% em massa de lodo secundário da ETE-AUDI. Esta composição representa uma simulação do lodo de saída de uma estação de tratamento de esgoto por sistema de lodos ativados convencional.

O reator RH apresentou um aumento na concentração média de ST do lodo pré-tratado de 46,7 g/L para 67,9 g/L. conforme Tabela 4.2. Este reator reduziu a fração volátil do lodo pré-tratado de 73% para 57% (Anexos I e II). Este valor está de acordo com a faixa de redução de sólidos voláteis para lodo digerido entre 40% e 60%, apresentada por Andreoli (1999), e é compatível com valores de redução de sólidos voláteis, entre 40% e 55% (LUDOVICE, 2003) e 55% (NOYOLA, 1998). Resultados produzidos por Noyola *et al.* (2007), em uma pesquisa anterior utilizando

o mesmo sistema de tratamento de lodo de esgoto, obtiveram uma redução de 66% para 61%, o que foi considerado não SANEPAR satisfatório.

TABELA 4.2 – RESULTADOS DAS MÉDIAS DOS VALORES DO CONJUNTO DE SÓLIDOS

Amostra	ST (g/L)	STV (g/L)	STF (g/L)	STV/ST (%)
Lodo pré-tratado	46,7 (\pm 17,1)	34,3 (\pm 11,6)	12,4 (\pm 7,1)	73 (\pm 5,6)
Lodo do RH	67,9 (\pm 5,2)	38,8 (\pm 2,5)	29,1 (\pm 3,9)	57 (\pm 14,1)
Lodo do RM	1,6 (\pm 0,02)	0,7 (\pm 0,1)	0,8 (\pm 0,09)	44 (\pm 16,4)

FONTE: autor (2009)

O efluente do reator RH foi alimentado ao reator RM com a fração volátil na proporção de 44%.

A Figura 4.10 permite observar a variação de coloração nas três fases dos reatores RH e RM, podendo ser notada uma estratificação do meio em três camadas, o leito de lodo, o manto de lodo e efluente, denominação adotada por Jordão e Pessoa (2009).



FIGURA 4.10 – ESTRATIFICAÇÃO DO MEIO NOS REATORES RH E RM

FONTE: O autor (2009)

4.5.2 Alcalinidade e pH

Um reator anaeróbio bem estabilizado apresenta alcalinidade total entre 2.000 mg/L e 5.000 mg/L. Nos processos anaeróbios, com a elevada concentração de CO₂, tipicamente na faixa de 30% a 50%, valores de alcalinidade entre 2.000 mg/L a 4.000 mg/L como CaCO₃ são necessários para manter o pH na faixa de neutralidade (MCCARTY *et al.*, 1963, JERIS e MCCARTY, 1965, MCCARTY, 1966, MCCARTY e BROSSEAU, 1975; METCALF e EDDY, 2003).

Em relação aos resultados obtidos para o reator RH, a Tabela 4.3 apresenta valores, mínimos, máximos e médios de alcalinidade, pH e relação α (quociente entre a alcalinidade medida a pH 5,75 e a alcalinidade medida a pH 4,3) e a Figura 4.11 apresenta a variação do pH e da relação α com o tempo.

Como pode ser observado, o valor médio do pH no reator RH foi de 7,9 ($\pm 0,4$), podendo ser considerado razoável quando comparado à média do valor do pH da mistura do lodo com pré-tratamento térmico ($7,5 \pm 0,6$).

Em relação à alcalinidade total média (1.314,0 mg/L), se os resultados forem comparados aos da literatura para sistemas de digestão convencional (MCCARTY *et al.*, 1963, JERIS e MCCARTY, 1965, MCCARTY, 1966, MCCARTY e BROSSEAU, 1975; METCALF e EDDY, 2003) pode-se considerar que, até o momento, o sistema encontra-se não estabilizado, pois o valor mínimo deveria ser de 2.000 mg/L. Esta observação poderia ser corroborada pelos valores mínimo e máximo da relação α de 0,62 e 0,92, respectivamente. Estes resultados estão associados às pequenas diferenças entre os valores de alcalinidade total e parcial observadas no reator, podendo indicar que o sistema não está tamponado, uma vez que, praticamente, não existe diferença numérica entre a alcalinidade total média observada no reator RH e na mistura de lodo pré-tratado (1.000 mg/L). Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Noyola *et al.* (2007), para o mesmo sistema de tratamento com diferença apenas nas condições de pré-tratamento térmico, que foram considerados não satisfatórios.

TABELA 4.3 – VALORES MÍNIMOS, MÁXIMOS E MÉDIOS DE ALCALINIDADE, RELAÇÃO α E pH NO REATOR RH

Ponto de amostragem	Valores	Alcalinidade pH 5,75 (mg/L)	Alcalinidade pH 4,3 (mg/L)	Relação α	pH
Lodo pré-tratado (RT)	Mínimo	72,8	320,3	0,12	6,1
	Máximo	837,2	2.69,1	0,68	8,6
	Média	428,7	1.093,5	0,44	7,5
	DP	205,3	549,7	0,1	0,6
Lodo de descarte do RH	Mínimo	135,2	195,5	0,62	7,1
	Máximo	1.820,0	2.480,0	0,92	8,6
	Média	1.058,5	1.314,0	0,82	7,9
	DP	427,3	600,0	0,1	0,4
Efluente de RM	Mínimo	509,6	576,9	0,82	8,1
	Máximo	930,6	1.108,8	0,89	8,4
	Média	686,3	799,6	0,86	8,3
	DP	148,2	192,7	0,28	0,2

FONTE: autor (2009)

A relação entre os valores de alcalinidade mostrou uma pequena acidificação devido à suposta presença de ácidos graxos voláteis, o que até o momento não pode ser comprovado.

O reator RM apresentou um valor médio para a alcalinidade total de 799,6 mg/L, considerado não satisfatório, pois representa um consumo de alcalinidade, podendo ser considerado que este reator não suportou a carga aplicada.

A Figura 4.12 apresenta a variação temporal do pH e da relação α em função da variação da taxa de aplicação de sólidos no reator RH. Esta relação foi o parâmetro de controle do processo e foi utilizada para a avaliação da estabilização do sistema em relação ao consumo de substrato.

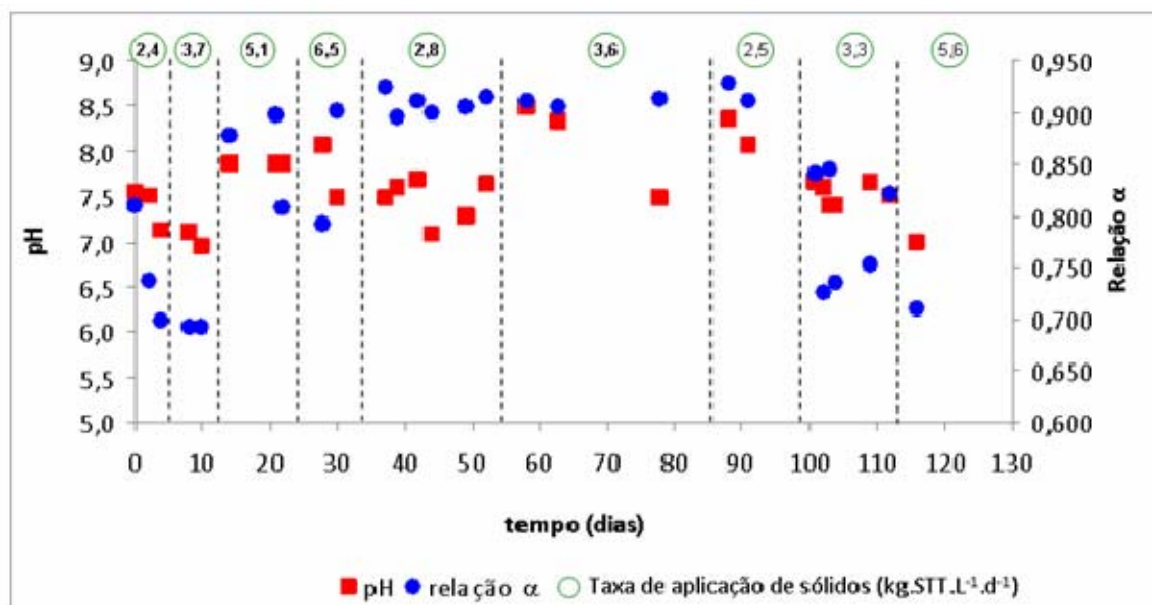


FIGURA 4.11 – VARIAÇÃO TEMPORAL DO pH E DA RELAÇÃO α EM FUNÇÃO À TAXA DE APLICAÇÃO DE SÓLIDOS NO REATOR RH

FONTE: O autor (2009)

Nos primeiros 10 dias, com a elevação da taxa de sólidos de 2,4 kg STT/L.d para 3,7 kg STT/L.d, os valores do pH e da relação α reduziram de 7,5 para 6,9 e de 0,81 para 0,69, respectivamente. A oscilação da relação α foi devida ao aumento da taxa de sólidos aplicada. Do 11º dia ao 25º dia, o pH e a relação α apresentaram comportamento estável, o que possibilitou o aumento da taxa de 5,1 kg STT/L.d para 6,5 kg STT/L.d a partir do 25º dia, até o trigésimo terceiro. Neste período, houve um aumento na relação α , que se aproximou de 1, tendo sido necessário diminuir a taxa de sólidos aplicada. A partir do 34º dia, até 87º dia, o pH e a relação α do reator RH mantiveram-se estáveis, com valores próximos a 7,5 e 0,91, respectivamente. A partir deste período, houve um decréscimo constante tanto do pH quanto da relação α , podendo significar que o sistema estava entrando em equilíbrio.

4.5.3 Redução da concentração de matéria orgânica e produção de biogás

As Tabelas 4.4 e 4.5 apresentam valores de concentração da DQO solúvel, médios e para as condições de trabalho no reator RH, respectivamente.

Dos valores apresentados na Tabela 4.4 e na Figura 4.12, houve significativa redução na concentração de matéria orgânica solúvel em todas as etapas do tratamento, podendo, também, ser observada a elevada concentração de matéria

orgânica no lodo bruto. Na Tabela 4.5, pode-se observar que o reator de hidrólise (RH), apresentou eficiências de redução da DQO que variaram de 20% a 98%. Entretanto, por concepção de projeto, era esperado que ocorresse o inverso no reator RH, isto é, que as concentrações de DQO solúvel fossem menores na entrada do reator e maiores na saída, para garantir a etapa de metanização, em reator independente, o reator RM. Entretanto, em apenas três ocasiões, conforme evidenciado na Tabela 4.5, as concentrações de DQO solúvel na saída de RH apresentaram-se em condições de disponibilidade para geração de metano em RM.

TABELA 4.4 – RESULTADOS MÉDIOS DOS VALORES DE DQO SOLÚVEL

Amostra	DQO solúvel (mg O₂/ L)
Lodo Bruto (mistura LP + LS)	43184 (± 63651,2)
Lodo pré-tratado (RT)	13128 (± 33394,1)
Lodo de descarte de RH	2175 (± 2041,2)
Efluente de RM	930 (± 146,1)

FONTE: autor (2009)

TABELA 4.5 – VALORES PARA DQO SOLÚVEL NO REATOR RH

Data	DQO _{S1RH} (mg O ₂ /L)	DQO _{S2RH} (mg O ₂ / L)	% Remoção
12/02/09	3968	nd	
13/02/09	11765	nd	
16/02/09	10783	nd	
19/02/09	10358	nd	
23/02/09	3921	nd	
25/02/09	3921	1389	65
27/02/09	7842	5952	24
03/03/09	5882	1984	66
05/03/09	9803	5952	39
16/03/09	373	746	
17/03/09	9328	1306	86
23/03/09	1186	593	50
24/03/09	2372	593	75
25/03/09	1186	598	50
06/04/09	9505	190	98
08/04/09	2290	188	92
13/04/09	3053	188	94
17/04/09	3759	188	92
22/05/09	13202	943	93
05/06/09	71980	3891	95
16/06/09	1961	3921	
17/06/09	7782	1945	75
18/06/09	2066	3891	
22/06/09	5836	1945	67
23/06/09	7782	3891	50
26/06/09	3891	1945	50
03/07/09	10330	8264	20

nd não determinado – período de inoculação / adaptação do reator de hidrólise

FONTE: autor (2009)

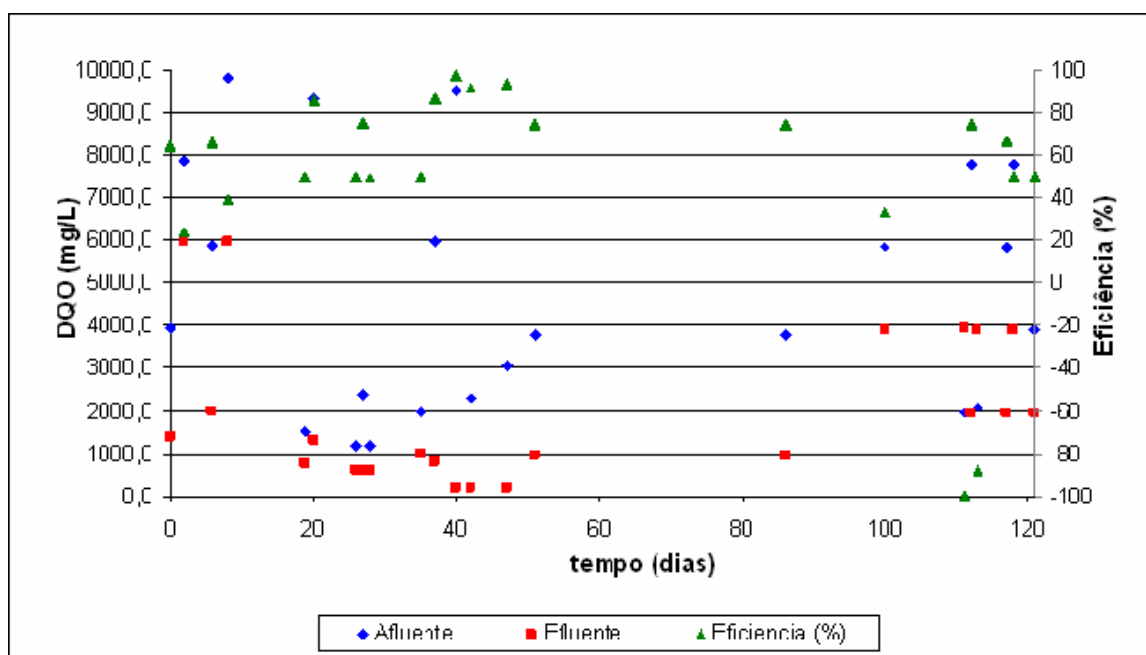


FIGURA 4.12 – AVALIAÇÃO TEMPORAL DA EFICIÊNCIA DA REMOÇÃO DA DQO EM REATOR HIDROLISADOR (RH)

FONTE: O autor (2009)

Os resultados referentes às concentrações da DQO solúvel no lodo bruto, pré-tratado termicamente e no reator RM estão apresentados nos Anexo VIII, IX e X, respectivamente.

Foi possível determinar o volume de biogás gerado apenas no reator RH, com valores que variaram de 100 mg/L a 895 mg/L.

O tempo de retenção do lodo foi de 15 dias, sendo considerado adequado para sua digestão, pois valores entre 10 a 20 dias são convencionais para reatores UASB (METCALF e EDDY, 2003; CHERNICHARO, 2007; NOYOLA *et al.*, 2007).

4.5.4 Atividade metanogênica específica

No final do experimento foi realizado um ensaio para a determinação da AME, conforme metodologia especificada pelo Manual de Técnicas de Laboratório, do Instituto de Engenharia da UNAM (CBA, 1990). Deve ser salientado que não foi observada produção de gás, o que indica que o lodo do reator RH estava estabilizado.

4.5.5 Balanço material dos reatores UASB

O lodo pré-tratado termicamente no reator termohidrolisador, utilizado para alimentação do reator RH, apresentou a concentração de 46,7 g ST/L (equivalente a 4% de ST). Para a amostra do manto leito de lodo do reator RH, a concentração foi de 67,9 g ST/L (equivalente a 6% de ST). Estes valores indicaram que o lodo foi degradado adequadamente pelos microrganismos, que permitiu afirmar que houve digestão no reator RH.

Os resultados foram obtidos após 30 dias do início do experimento, para um melhor controle do experimento. O balanço material de ST é apresentado na Figura 4.13.

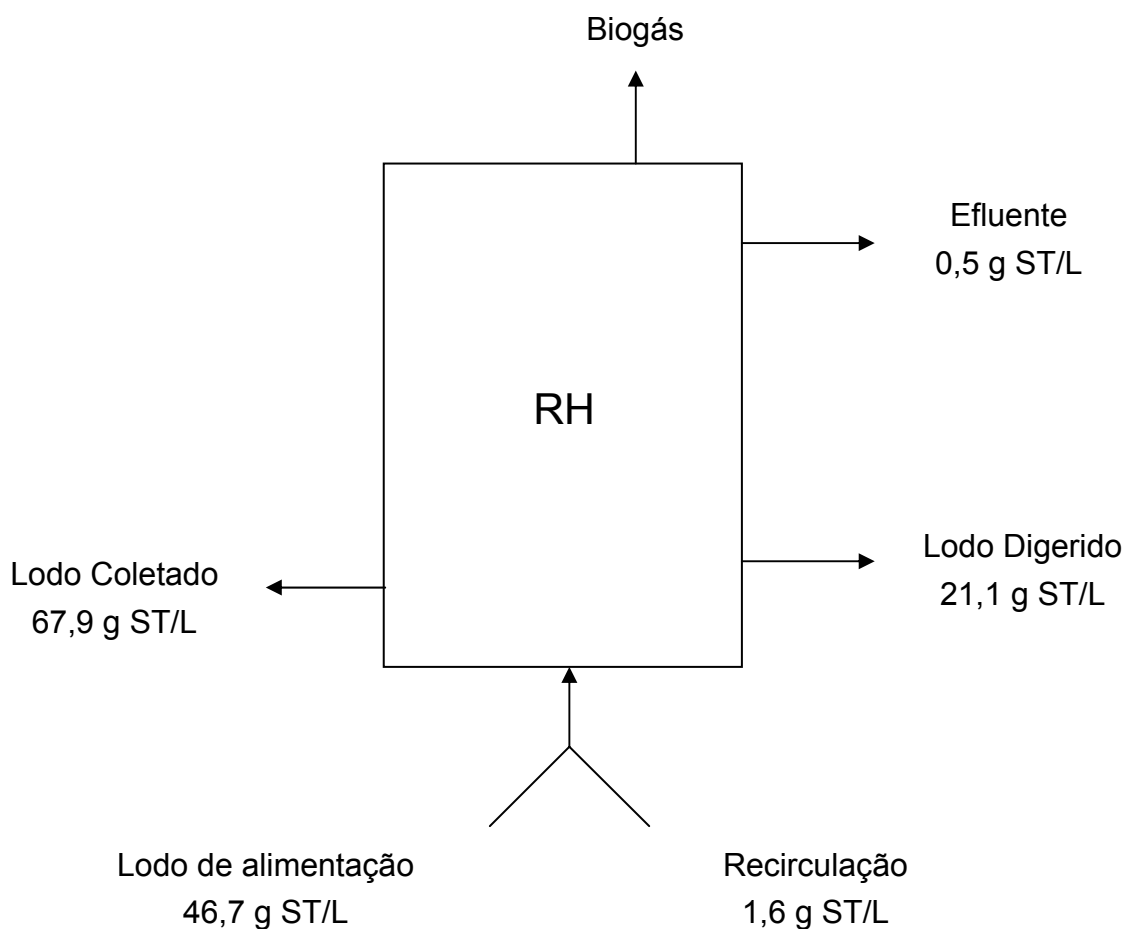


FIGURA 4.13 – BALANÇO MATERIAL DE SÓLIDOS TOTAIS DO REATOR RH

FONTE: O autor (2009)

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

O desenvolvimento experimental para a higienização e digestão de lodo misto obtido da estação de esgoto (lodo ativado) baseado na combinação de temperatura e tempo, possibilitou constatar a diminuição do número de ovos viáveis de helmintos no lodo bruto de 0,67 ovos viáveis/gST para 0,30 ovos viáveis/gST no lodo tratado, e a redução de coliformes termotolerantes de $0,8 \times 10^3$ NMP/100mL, no lodo bruto, para $0,8 \times 10^1$ NMP/100mL, no lodo tratado, para as condições experimentais de 60°C e 60 minutos de exposição. Assim estes resultados mostram que o produto atendeu aos padrões sanitários, especificados pela Resolução CONAMA nº 375/06 para lodo classe A, para aplicação na agricultura. Cabe salientar que neste estudo, em relação aos lodos utilizados, não foi identificada a presença de *Salmonella* spp.

Assim, os resultados permitem afirmar que os processos de higienização do lodo de esgoto, visando a redução de risco a saúde humana, possibilitam a reciclagem dos biossólidos, podendo ser aplicado no meio agrícola, para o fornecimento de nutrientes, Matéria Orgânica (M. O.), entre outras aplicações.

O lodo tratado termicamente foi encaminhado a um processo bifásico, utilizando reatores tipo UASB. O reator RH operou com altas taxas com aplicação de sólidos (de 2,4 kg STT. m⁻¹.dia⁻¹ a 6,5 kg STT.m⁻¹.dia⁻¹), podendo ser afirmado que houve digestão da matéria orgânica no reator RH. No entanto, seria necessário avaliar a performance deste reator em relação à aplicação de taxas de sólidos mais elevadas e disponibilidade de matéria orgânica transferida ao reator RM para a produção de metano neste último reator, o que não ocorreu nas condições experimentais deste estudo.

REFERÊNCIAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12.209**. Elaboração de projetos hidráulico-sanitários de estações de tratamento de esgoto sanitário – Texto Revisado. Rio de Janeiro. Setembro, 2009.

AISSE, M. M. Tratamento e destino final do lodo. In: AISSE, M. M. **Sistemas econômicos de tratamento de esgotos sanitários**. Rio de Janeiro: ABES, p. 191. 2000.

AISSE, M. M. **Tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. 284 f. 2 v. Tese (Doutorado em Engenharia) – Engenharia Hidráulica e Sanitária, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

ALMEIDA, G. C.; FANHANI, J. C.; D'OLIVEIRA, P. S.; FILHO, B. P. D. Eficiência dos processos químico e térmico na higienização de lodo de esgoto. **Iniciação Científica CESUMAR**, Maringá, v. 8, n. 1, p. 95-99, jan./jun. 2006.

ANDRAUS, S.; BORGES, J. C.; HIGASKINO, C. E. K.; TAKAMATSU, A. A. Pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de lodo de esgoto e solo: isolamento e identificação. In: ANDREOLI, C. V.; BONNET, B. R. P. (Coord.). **Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto**. 2º ed. revisada. Paraná: SANEPAR/PROSAB, p. 65-67. 2000.

ANDREOLI, C. V.; FERNANDES, F.; DOMASZAK, S. C. **Reciclagem agrícola do lodo de esgoto**. Curitiba: SANEPAR, p. 81, 1997.

ANDREOLI, C. Produção e características dos biossólidos. In: Uso e manejo do lodo de esgoto na agricultura. FERNANDES, F. (Coord.). PROSAB/SANEPAR: Curitiba, v. 4, 1-17, 1999.

APHA; AWWA; WPC – American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed., 1998.

AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A.; FORESTI, E.; SANTOS, M. L. F.; MONTEGGIA, L. O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental, Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 192-201, abr./jun. 2007.

ARCE, E. B. M. **Pretratamiento térmico y digestión anaerobia mesofílica de lodos residuales para la producción de biosólidos clase A**. 64 hojas. Tesis (Maestría en Ingeniería Ambiental) – Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2009.

AYRES, R. Enumeration of parasitic helminths in raw and treated wastewater. **A brief practical guide**. Department of Civil Engineering, Leeds University, March. U. K. 1989.

AYRES, R.; STOTT, R.; LEE, D. L.; MARA, D. D.; SILVA, S. A. Comparison of techniques for the enumeration of human parasitic helminth eggs in treated wastewaters. **Environmental Technology**, v. 12, p. 617-623. 1991.

AYRES, R.; LEE, D. L.; MARA, D. D. Analysis of wastewater for use in agriculture. **A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques**. WHO, Geneva. 1996.

BAILENGER, J. Mechanisms of parasitological concentration in coprology and their practical consequences. **Journal of American Medical Technology**, v. 41, p. 65-71. 1979.

BARJENBRUCH, M.; KOPFLOW, O. Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge. **Advances in Environmental Research**. v. 7, n. 3, p. 715-720. 2003.

BARROS, I. T.; COSTA, A. C. S.; ANDREOLI, C. V. Avaliação da higienização de lodo de esgoto anaeróbico através do tratamento ácido e alcalino. **Revista SANARE**, Curitiba, v. 24, n. 24, p. 61-69, jan./jun. 2006.

BASTOS, R. K. X.; MARA, D. D. Avaliação de critérios e padrões de qualidade microbiológica de esgotos sanitários tendo em vista sua utilização na agricultura. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 17, 1993, Natal. **Anais do 17º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Natal, 1993.

BEJAR, D. O.; CHERNICHARO, C. A. L. Estudo do desaguamento de lodo anaeróbico submetido à etapa prévia de tratamento térmico. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23, 2005, Campo Grande. **Anais do 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Campo Grande, 2005, 11 CD-ROM.

BERTON, R. S.; CEOLATO, L. C. **Reciclagem agrícola de lodo de esgoto na forma líquida: uma boa alternativa para a indústria**. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/Lodo/index.htm>. Acesso em: 2/10/2009.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, p. 312, 2000.

BEZERRA, L. J. D.; LIMA, V. L. A.; ANDRADE, A. R. S.; ALVES, V. W.; AZEVEDO, C. A. V.; GUERRA, H. O. C. Análise de crescimento do algodão colorido sob os efeitos da aplicação de água residuária e biossólidos. **Revista Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, p. 333-338. 2005.

BLACK, D. Development of a water industry manual for biosolids use in short rotation forestry. **Biomass and Bioenergy**. Oxford, v. 15, n. 1, p. 101-107, jan. 1998.

BOUGRIER, C.; ALBASI, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatment on waste active sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. **Chemical Engineering and Processing**. v. 45, n. 8, p. 711-718. 2006a.

BOUGRIER, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Combination of thermal treatments and anaerobic digestion to reduce sewage quantity and improve biogas yield. **Process Safety and Environmental Protection**. v. 84, n. B4, p. 280-284. 2006b.

BOUGRIER, C.; DELGENÈS, J. P.; CARRÈRE, H. Effect of thermal treatment on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. **Chemical Engineering Journal**. v. 139, p. 236-244. 2008.

BRAGA, M. C. B. **Estudo da eficiência dos processos bioquímicos em um reator anaeróbio de leito fluidizado automatizado**. 76 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1989.

BRASIL. **Atlas das áreas susceptíveis à desertificação do Brasil**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2007.

BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, p. 966. 2007.

CARRIJO, J. R.; BIONDI, G. F. Levantamento de ovos de helmintos em lodo de esgoto oriundo de Campo Grande (MS) após tratamento anaeróbico. **Ciência Animal Brasileira**. v. 9, n. 1, p. 207-211, jan./mar. 2008.

CARRINGTON, E. G. **Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction**. Final Report. Luxemburg: European Communities. September. 44 f. 2001.

CASSINI, S. T.; CHERNICHARO, C. A. L.; ANDREOLI, C. V. A.; FRANÇA, M.; BORGES, E. S. M.; GONÇALVES, R. F. Hidrólise e atividade anaeróbia em lodos. In: CASSINI, S. T. (Coordenador). **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás**. Vitória: ABES, p. 11-52. 2003.

CBA – Coordinación de Bioprocesos Ambientales. **Manual de técnicas de laboratorio**. Instituto de Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. México, 1990.

CIMERMAN, B; FRANCO, M. A. **Atlas de parasitologia: artrópodes, protozoários e helmintos**. São Paulo: Atheneu, p. 53-101. 2005.

CHAGAS, W. F. **Estudo de patógenos e metais em lodo digerido bruto e higienizado para fins agrícolas, das estações de tratamento de esgotos da Ilha do Governador e da Penha no estado do Rio de Janeiro**. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2000.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. 2ª edição. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, v. 5, p. 380. 2007.

COELHO, W. M.; CARVALHO, E. H.; ARAÚJO, J. L. B. Avaliação de metodologias para detecção de ovos de helmintos no lodo e determinação do percentual de recuperação. In: Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 28, 2002, Cancún. **Anais do 28º Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. Cancún, México, 2002. 6 CD-ROM.

PROPOSTA DE NORMA. COLOMBIA. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (Minambiente). Reglamentación sobre aprovechamiento de residuos sólidos, y lodos estabilizados generados en plantas de tratamientos de aguas residuales municipales. Propuesta de resolución, abril de 2009. (2009).

(CONAMA Chile) Comisión Nacional del Medio Ambiente. Reglamento chileno para el manejo de lodos no peligrosos generados en las plantas de tratamiento de aguas. 2000.

CONAMA. - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Meio Ambiente. Resolução n. 375, de 29 de Agosto de 2006a. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasília DF. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf>>. 32p. Acesso em: 12/01/2007.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente Resolução nº 380, de 07 de novembro de 2006b. Retifica a Resolução nº 380. **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil** Brasília, DF, Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=514>>. 2p. Acesso em: 12/01/2007.

COOKSON, J.T. e BURBANK JUNIOR, N.C. Isolation and identification of anaerobic and facultative bacteria present in the digestion process. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 37, n. 6, p. 822-844, 1965.

CUTOLO, S. A. Correlação entre a microfauna e as condições operacionais de um processo de lodos ativados. In: Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 27, 2000, Porto Alegre. **Anais do 27º Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. Porto Alegre, Brasil, 2000.

DEBOSZ, K.; PETERSEN, S.O.; KURE, L.K.; AMBUS, P. Evaluating effects of sewage sludge and household compost on soil physical, chemical and microbiological properties. **Applied and Soil and Ecology**, v.19, p.237-248, 2002.

DOLFING, J.; Granulation in UASB reactors. **Water Science and Technology**, v. 18, n. 12, p. 15-26. 1986.

DOHANYOS, M.; ZABRANSKA, J.; KUTIL, J.; JENICEK, P. Improvement of anaerobic digestion of sludge. **Water Science and Technology**. v. 49, n. 10, p. 89-96. 2004.

FEACHEM, R. G.; BRADLEY, D. J.; GARELICK, H.; MARA, D. **Sanitation and disease: health aspects of excreta and wastewater management**. England: Word Bank Studies in Water Supply and Sanitation 3. John Wiley e Sons. Chichester, 1983.

FERNANDES, F.; SILVA, S. M. C. P. **Manual prático para a compostagem de bio sólidos**. UEL, FINEP/PROSAB – Tema IV – Edital 01/96. Disponível em: <<http://www.finep.gov.br/Prosab/livros/LibroCompostagem.pdf>>. Acesso em 02/10/2009.

FERRER, I.; PONSÀB, S.; VÁZQUEZC, F.; FONT, X. Increasing biogas production by thermal (70°C) sludge pre-treatment prior to thermophilic anaerobic digestion. **Biochemical Engineering Journal**. v. 42, p. 186-192. 2008.

FILIFE, C. H. O. **Filo tardígrada: descrição e sistemática**. Web artigos.com. Biologia. Publicado em 09/09/2008. Disponível em: <<http://www.webartigos.com/articles/9200/1/FILO-TARDIGRADA-DESCRICAO-E-SISTEMATICA/pagina1.html>>. Acesso em 25/08/2009.

FJORDSIDE, C. An operating tale from Naeested Sewage Treatment plant. Municipal Wastewater Treatment Nordic Conference, Copenhagen, p. 17-19. January 2001.

GALVÁN, M.; VICTORICA, J. Implicaciones sanitárias de la presencia de huevos viables de nemátodos em el agua para riego y necesidad de su evaluación rápida. In: Congreso Interamericano de Ingenieria sanitaria y ambiental, 26, 1998, Lima. **Anais do 26º Congresso Interamericano de Ingenieria sanitaria y ambiental**. Lima, Peru, 1998.

GASPARD, P.; WIART, J.; SCHWARTZBROD, J. Parasitological contamination of urban sludge used for agricultural purposes. **Waste Management and Research**. v. 15, n. 4, p. 429-436. August 1997.

GASPARINI, E. A.; PORTELLA, R. **Manual de parasitoses intestinais**. Rio de Janeiro: Rubio, p.189. 2004.

GAVALA, H. N.; YENAL, U.; SKLADAS, I. V; WESTERMANN, P. e AHRING, B. K. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. Effect of pre-treatment at elevated temperature. **Water Research**. v. 37, p. 4561-4572. 2003.

GONÇALVES, R. F.; LUDUVICE, M. Alternativas de minimização da produção e desaguamento de lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola de lodo de esgoto**. Jaguarai, São Paulo: EMBRAPA, Meio Ambiente, p. 25-44. 2000.

GOSH, S.; CONRAD, J. R. Anaerobic process. **Journal of Water Pollution Control Federation**, v. 47, n. 6, p. 1278-1300, 1975.

GRAJA, S.; CHAUZY, J.; FERNANDES, P.; PATRIA, L.; CRETENOT, D. Reduction of sludge production from WWTP using thermal pretreatment and enhanced anaerobic methanisation. **Water Science and Technology**. v. 52, n. 1-2, p. 267-273. 2005.

GUJER, W.; ZEHNDER, A. J. B. Conversion processes in anaerobic digestion. **Water Science and Technology**, V. 15, p. 127-167, 1983.

HAUG, R. T.; STUCKEY, J. M.; GOSSETT, P. L.; Mc CARTY. Effect of thermal pretreatment on digestibility and dewaterability of organic sludges. **Journal Water Pollution Control Federation**. p. 73-85. 1978.

HAYS, B. D. Potential for parasitic disease transmission with land application of sewage plant effluents and sludges. **Water Research**. v. 11, n. 7, p. 583-595. 1977.

HESPANHOL, I. Guidelines and integrated measures for public health protection in agricultural reuse systems. **Aqua: Journal of Water Supply Research and Technology**. v. 39, n. 4, p. 237-249. 1990.

HIGASKINO, C. E. K.; TAKAMATSU, A. A.; BORGES, J. C.; BALDIN, S. M. Determinação de coliformes fecais em amostras de lodo de esgoto por fermentação em tubos múltiplos. In: ANDREOLI, C. V.; BONNET, B. R. P. (Coord.). **Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto**. 2º ed. revisada. Paraná: SANEPAR/PROSAB, p. 49-56. 2000.

IGLÉSIAS, J. D. F. **Aspectos médicos das parasitoses humanas**. Rio de Janeiro: editora médica e científica - MEDSI, p.121-124. 1997.

Imagem da microscopia ótica de *Isospora belli*. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/para-site/siteantigo/Imagensatlas/Protozoa/Isospora.htm>> Acesso em: 07/07/2010.

JANEBRO, D. I.; CEBALLOS, B. S. O.; KÖNIG, A. Ocorrência de ovos de helmintos e cistos de protozoários e sua relação com sólidos totais e frações na água e no sedimento de um rio poluído com esgotos. In: Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 28, 2002, Cancún. **Anais do 28º Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. Cancún, México, 2002. CD-ROM.

JERIS, J. S.; MC CARTY, P. L. The biochemistry of methane fermentation using C-Tracers. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 37, n. 2, p. 178-192. February, 1965.

JERIS, J. S.; OWENS, R. W. Pilot-scale, high rate denitrification. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 47, n. 8, p. 2943-2957. August, 1975.

JIMÉNEZ, B. **Huevos de helmintos identificados em águas residuais y lodos de México**. Universidad Nacional Autonoma de México (UNAM). Instituto de Ingeniería. (sem data)

JORDÃO, E. P. e PESSOA C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 5ª edição. Rio de Janeiro: ABES, p. 941. 2009.

KENNEDY, K. J.; GUIOT, S. R. Anaerobic upflow sludge bed-filter. In: Development and application. **Water Science and Technology**. v. 18, n. 12, p. 712-786. 1986.

KIM, J.; PARK, C.; KIM, T. H.; LEE, M.; KIM, S.; KIM, S. W.; LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. **Journal Bioscience and Bioengineering**. v. 95, n. 3, p. 271-275. 2003.

KOWAL, N. E. Health effects of land application of Municipal sludge. Washington: EPA, 1985.

LETTINGA, G.; VAN VELSEN, A. F. M.; HORMA, S. W.; ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A. Use of the upflow blanket (UASB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology Bioengineering**. v. 22, n. 4, p. 699-744. 1980.

LETTINGA, G.; POL, H. UASB – Process design for various types of wastewaters. **Water Science e Technology**, v. 24, n. 8, p. 87-107. 1991.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed, p. 325-363. 2005.

LI, Y. Y.; NOIKE, T. Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by thermal pretreatment. **Water Science and Technology**. v. 26, p. 857-866. 1992.

LIMA, J.D. *Sarcocystis*, *Isospora* e *Cryptosporidium*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11ª edição. São Paulo: Ateneu, p. 173-182. 2005.

LU, J.; GAVALA, H. N.; SKIADAS, I. V.; MLADENOVSKA, Z.; AHRING, B. K. Improving anaerobic sewage sludge digestion by implementation of a hyper-thermophilic prehydrolysis step. **Journal of Environmental Management**. v. 88, n. 4, p. 881-889. 2008.

LUDUVICE, M. Processos de estabilização de lodos. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG; Companhia de Saneamento do Paraná, p. 123-157. 2001.

MACH, M. **Still images**. Das Bärtierchen-Journal. Disponível em: <<http://www.baertierchen.de/wbwb.html>>. Acesso em 26/08/2009.

MAYA, C.; JIMÉNEZ, B. E. C.; BARRIOS, J. A. Evaluación microbiológica de un lodo residual de México: perspectivas de reuso. In: Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 28, 2002, Cancún. **Anais do 28º Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. Cancún, México, 2002. CD-ROM.

MAYA, C.; JIMÉNEZ, B. E. C.; SCHWARTZBROD, J. Comparison of techniques for the detection of helminth ova in drinking water and wastewater. **Water Environment Research**. v.78, n. 2, p. 118-124, February 2006.

MAYA, C.; LUCARIO, S.; GALVÁN, M.; GAYOSSO, T.; NARANJO, R.; JIMÉNEZ, B. Estudio del mecanismo de inactivación de diferentes géneros de huevos de helmintos de importancia médica. In: Congreso Interamericano AIDIS, 31, 2008, Santiago de Chile. **Anais do 31º Congresso Interamericano AIDIS**. Santiago de Chile, 2008.

MCCARTY, P. L. **Anaerobic Waste Treatment Fundamentals**. In: Environmental Requirements and Control. Part Two. Public Works, 123 – 126, october. 1964.

MCCARTY, P. L. **Anaerobic treatment of soluble wastes**. Presented at the Special Lectures Series on Advances in Water Quality Improvement. The University of Texas, 1-20, April 4-7, 1966.

MENA, M. P. Legislación sobre lodos en América Latina: un análisis comparativo. In: Congreso Interamericano AIDIS, 31, 2008, Santiago de Chile. **Anais do 31º Congresso Interamericano AIDIS**. Santiago de Chile, 2008.

MESSIAS, A. S.; SILVA, H. A.; LIMA, V. N.; SOUZA, J. E. G. Avaliação da mobilidade de micronutrientes em solo tratado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de gestão e Desenvolvimento Rural**. v. 3, n. 3, p. 193-211, set/dez. 2007.

METCALF e EDDY. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4th ed. USA: McGraw-Hill Book Company, 2003.

NASCIMENTO, M. B. H.; LIMA, V. L. A.; NAPOLEÃO, E. M. B.; SOUZA, A. P.; FIGUEIREDO, I. C. M.; LIMA, M. M. Uso de biossólido e de água residuária no crescimento e desenvolvimento da mamona. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras**. Campina Grande, v. 10, 1/2, p. 1001-1007, jan./ago. 2006.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11^a ed. São Paulo: Ateneu, p. 247-288. 2005.

Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental – Lodos y biosólidos – Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamientos y disposición final. 2002.

NOYOLA, A. **Fundamentos de la digestión anaerobia de lodos**. Instituto de Ingeniería (UNAM). México. 1998.

NOYOLA, A. R.; GARBOSSA, L. H. P.; BRAGA, M. C. B.; ANDREOLI, C. V.; FERNANDES, C. V. S. Digestão e higienização de lodos de estação de tratamento de esgotos através de um processo de duas fases não convencionais. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 24, 2007, Belo Horizonte. **Anais do 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Belo Horizonte, 2007. CD-ROM.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Pranchas para o diagnóstico de parasitas intestinais**. 2ª reimpressão, São Paulo: Santos, 2007. 10 pranchas.

OMS. Organização Mundial de Saúde. **Relatório mundial de saúde 2008 – Cuidados de saúde primários (Agora mais que nunca)**. Disponível em: <www.who.int/entity/eportuguese/publications/whr08_pr.pdf>. Acesso em: 28/07/2010.

PATZA, M. G. B.; PAWLOWSKY, U.; RODA, L. S. A. Digestão anaeróbia de despejos de cervejaria em reator de leito do lodo granulado. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 13, 1985, Maceió. **Anais do 13º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Maceió, 1985.

PAWLOWSKY, U.; GABARDO, M.; PATZA, M. G. Desenvolvimento de processo anaeróbios para geração de metano a partir do vinhoto de mandioca. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 11, 1981, Fortaleza. **Anais do 11º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Fortaleza, 1981.

PEREIRA, D. A.; DAMIN, J.; LIMA, L. M. e ULIANAO, R. W. Artigo de Revisão - *Isospora belli*: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial (*Isospora belli*: clinics aspects and laboratory diagnosis). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 41, n. 4, p. 283-286, 2009.

PINTO, M. T. Higienização de lodos. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG; Companhia de Saneamento do Paraná, p. 261-297. 2001.

PIRES, A. M. M. **Lodo de esgoto**. Artigo em Hypertexto. 2009. Disponível em: <http://ambientes.ambientebrasil.com.br/residuos/artigos/lodo_de_esgoto.html>. Acesso em: 2/10/2009.

POL, H.; LETTINGA, G. New technologies for the anaerobic wastewater treatment. **Water Science and Technology**, v. 18, n. 12, p. 41-53. 1986.

REY, L. **Parasitologia – Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 731. 1991.

ROJAS, M. N.; GALVÁN, M.; VICTORICA, J. Evaluación rápida de la viabilidade de los huevos de helmintos com colorantes biológicos. In: Congreso Interamericano Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 26, 1998, Lima. **Anais do 26º Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. Lima, Peru, 1998.

RUBIO, L. **Producción de biosólidos de clase “A” mediante digestión anaerobia en dos fases a partir de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales**. 100 h. Tesis (Maestría en Ingeniería Ambiental) – Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2004.

SAVADOR, J. T. **Reciclagem agrícola de lodo de esgoto tratado no Paraná pelo processo N-Viro: efeitos em solos, plantas, água de percolação e a possibilidade da alternância de sua relação Ca:Mg**. 142 f. Tese, (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SILVA, A. V. M.; MASSARA, C. L. *Ascaris lumbricoides*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11ª ed. São Paulo: Ateneu, p. 253-259. 2005.

SILVA, M. M. P. **Tratamento de lodos de tanques sépticos por co-copostagem para os municípios do semi-árido paraibano: alternativa para mitigação de impactos ambientais**. 219 f. Tese (Doutorado em Recursos Naturais) – Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2008.

SKLADAS, I. V.; GAVALA, H. N.; LU, J. e AHRING, B. K. Thermal pre-treatment of primary and secondary sludge at 70 °C prior to anaerobic digestion, **Water Science Technology**, v. 52, n.1-2, p. 161-166. 2005.

SHUVAL, H. I.; YEKUTITEL, P.; FATTAL, B. An epidemiological model of the potential health risk associated with various pathogens in wastewater irrigation. **Water Science and Technology**. v. 18, p. 191-198. 1986.

SILVEIRA, M. D. P. **Enteroparasitoses em pacientes atendidos pelo SUS: relação entre condições de saneamento básico e incidência de parasitoses intestinais na população de Santo Amaro da Imperatriz, Santa Catarina**. 92 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2007.

SOCCOL, V. T.; PAULINO, R. C.; CASTRO, J. Eficácia dos diferentes processos de tratamento do lodo na redução da viabilidade de ovos de helmintos. **Revista SANARE**. v. 8, n. 8, p. 24-32. 1997.

SOCCOL, V. T.; PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A. Metodologia de análise parasitológica em lodo e esgoto. In: ANDREOLI, C. V.; BONNET, B. R. P. (Coord.). **Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto**. 2º ed. revisada. Paraná: SANEPAR/PROSAB, p. 27-41. 2000.

SOCCOL, V. T. Riscos de contaminação do agrossistema com parasitos pelo uso de lodo de esgoto. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguaraína, São Paulo: EMBRAPA, Meio Ambiente, p. 128-145. 2000.

STATISTICA 6.0. Statistic for Windows. **Statsoft**, USA, 2001.

STORER, T. I.; USINGER, R. L.; STEBBINS, R. C.; NYBAKKEN, J. W. **Zoologia Geral**. 6ª ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional. p. 405-406. 1991.

STUCKLEY, D. C.; Mc CARTY, P. L. Thermochemical pretreatment of nitrogenous materials to increase methane yield. **Biotechnology & Bioengineering Symposium**. v. 8, p. 219-233. 1978.

SWITZEMBAUM, M. S.; GRADY JR., C. P. L. Anaerobic treatment of domestic wastewater. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 58, n. 2, p. 102-106. February, 1986.

TAKEMOTO, S. Y. **Pré-tratamentos de Lodos Biológicos gerados nos Processos de Lodos Ativados para o Aumento da sua Biodegradabilidade Através de hidrólises Enzimática, Térmica e Alcalina**. 214 f. Tese, (Doutorado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

TANAKA, S.; KOBAYASHI, T.; KAMIYAMA, K. I.; BILDAN, L. N. Effects of thermochemical pretreatment on the anaerobic digestion of waste actives sludge. **Water Science and Technology**. v. 35, p. 209-215. 1997.

TORRES, P; MADERA, C.; SILVA, J. Mejoramiento de la calidad microbiológica de biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas. **Revista EIA**. Escuela de Ingeniería de Antioquia, Medellín (Colombia). n.11, p. 21-37, Julio 2009.

TSUTIYA, M. T. Características de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgotos. In: TSUTIYA, M. T.; COMPARINI, J. B.; SOBRINHO, P. A.; HESPANHOL, I. (Eds.) **Biossólidos na agricultura**. São Paulo: SABESP, p. 89-131. 2001a.

TSUTIYA, M. T. Uso agrícola dos efluentes das lagoas de estabilização do estado de São Paulo. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 21, 2001, João Pessoa. **Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. João Pessoa, 2001b.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **40 CFR Part 503**. Use of disposal of sewage sludge; biosolids. Washington-US: Environmental Protection Agency, february 19, 1993. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epahome/lawregs>> Acesso em: 06 fev. 2009.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **EPA/530/R-99/009**. Biosolids generation, use, and disposal in the United States. Washington-US: Environmental Protection Agency, September, 1999. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epahome/lawregs>> Acesso em: 06 fev. 2009.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **EPA/625/R-92/013**. Environmental regulations and technology; control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. Washington-US: Environmental Protection Agency, revised July, 2003. 119p. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epahome/lawregs>> Acesso em: 06/02/2009.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **EPA/832/R-06/003**. Emerging technologies for biosolids management. Washington-US: Environmental Protection Agency, D. C. September, 2006. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epahome/lawregs>> Acesso em: 06/02/2009.

VALO, A.; CARRÈRE, H.; DELGENÈS, J. P. Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste active sludge for anaerobic digestion. **Journal of Chemical and Technology Biotechnology**. v. 79, p. 1197-1203. 2004.

VON SPERLING, M. Princípios do tratamento biológico de esgoto. In: VON SPERLING, M. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG; p. 11-35. 1996.

VON SPERLING, M.; GONÇALVES, R. F. Lodo de esgotos: características e produção. In: ANDREOLLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Lodo de esgoto: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG; SANEPAR, p. 17-67. 2001.

VON SPERLING, M. Tratamento e disposição final do lodo. In: VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG; SANEPAR, p. 357-391. 2005.

WEBER, M. I. **Avaliação da eficiência de um reator anaeróbico de leito fluidizado para o tratamento de resíduos líquidos da indústria de refrigerante**. 165 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

WHO - World Health Organization. **Health guidelines for use of wastewater in agriculture and aquaculture**. Technical Report Series. 778. Geneva, 1989.

WHO - World Health Organization. **Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites**. Geneva, 1994.

WHO - World Health Organization. **Integrated guide to sanitary parasitology**. Amman, Jordan: Regional Center for Environmental Health Activities. 2004.

WHO - World Health Organization. **Health and the millenium development goals**. Geneva, 2005.

WOESE, C. R.; MAGRUM, L. J.; FOX, G. E. Archaeobacteria. **Journal of Molecular Evolution**. v. 11, p. 245-252. 1978.

WOESE, C. R.; KANDLER, O.; WHEALIS, M.S. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. USA. v. 87, p. 4576-4579. June 1990.

YANKO, W. A. Occurrence of pathogens in distribution and marketing Municipal sludges. In: Environmental regulation and technology: control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. **Rapport U. S. EPA 600/I-87/014**. National Technical Information Service: Springfield, Virginia. 1987.

ZAMAN, V. **Atlas color de parasitologia clínica**. 2ª ed. Buenos Aires – Argentina: Editorial medica Panamericana, p. 159, 251 e 261. 1996.

ZAPPAROLI, I. D.; FERNANDES, F.; SILVA, S. C.; TINO, J. K.; CASTRO, F. B. Biossólido: reciclagem do lodo de esgoto em londrina e região. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 45, 2007, Londrina. **Anais do 45º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. Londrina, 16f. 2007.

ZERBINI, A. M. **Identificação e análise de viabilidade de ovos de helmintos em um sistema de tratamento de esgotos domésticos constituído de reatores anaeróbios e rampas de escoamento superficial**. 143f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Saneamento, Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

ZERBINI, A. M.; CHERNICHARO, C. A. Metodologias para qualificação, identificação e análise de viabilidade de ovos de helmintos em esgotos brutos e tratados. In: CHERNICHARO, C. A. (Coord.). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos**. Belo Horizonte: PROSAB 2, p. 71-107. 2001.

ANEXOS

**ANEXO I - PARÂMETROS REFERENTES AO CONJUNTO DE SÓLIDOS DO
LODO PRÉ-TRATADO (RT)**

Data	STT (g/L)	STV (g/L)	STF (g/L)	STV/STT
12/02/09	55,9	44,0	11,9	0,75
13/02/09	59,9	43,4	16,5	0,72
16/02/09	22,7	16,2	6,4	0,72
18/02/09	15,0	10,5	4,5	0,69
19/02/09	36,9	25,0	11,7	0,68
20/02/09	28,1	19,6	8,4	0,70
23/02/09	23,0	15,8	7,2	0,68
25/02/09	31,3	20,8	10,5	0,66
27/02/09	45,8	34,3	11,5	0,74
03/03/09	46,4	35,3	11,1	0,76
05/03/09	39,8	30,5	9,3	0,76
09/03/09	10,4	6,4	4,0	0,61
16/03/09	17,0	12,6	4,4	0,74
17/03/09	16,2	11,7	4,5	0,72
23/03/09	10,5	6,3	4,2	0,60
25/03/09	3,2	1,9	1,2	0,61
01/04/09	13,0	8,3	4,7	0,63
03/04/09	22,2	14,5	7,6	0,65
06/04/09	15,6	10,7	4,9	0,70
08/04/09	7,4	5,4	1,9	0,73
13/04/09	10,9	8,1	2,7	0,74
15/04/09	31,6	23,6	7,9	0,74
17/04/09	11,4	7,9	3,5	0,69
22/04/09	5,6	3,8	1,7	0,68
27/04/09	2,7	1,9	0,8	0,68
12/05/09	15,6	10,4	5,1	0,66
22/05/09	20,6	14,3	6,2	0,69
25/05/09	9,3	6,7	2,5	0,72
02/06/09	20,2	14,4	5,8	0,71
05/06/09	21,8	15,8	6,0	0,72
16/06/09	68,9	28,7	40,1	0,50
17/06/09	34,4	24,0	10,2	0,70
18/06/09	31,8	22,5	9,3	0,71
23/06/09	37,6	25,8	11,7	0,68
26/06/09	31,8	21,7	10,0	0,58
30/06/09	32,1	22,2	9,9	0,69
02/07/09	39,7	29,5	10,2	0,75

FONTE: autor (2009)

**ANEXO II - PARÂMETROS REFERENTES AO CONJUNTO DE SÓLIDOS DO
REATOR RH**

Data	STT (g/L)	STV (g/L)	STF (g/L)	STV/STT
23/02/09	1,4	0,8	0,5	0,59
25/02/09	1,5	0,9	0,5	0,61
27/02/09	1,4	0,8	0,5	0,60
03/03/09	7,8	4,9	2,9	0,62
05/03/09	6,8	4,2	2,5	0,62
09/03/09	3,1	1,9	1,2	0,62
16/03/09	0,9	0,5	0,4	0,50
17/03/09	0,9	0,5	0,4	0,54
23/03/09	0,7	0,2	0,4	0,33
24/03/09	0,5	0,3	0,2	0,49
25/03/09	0,7	0,2	0,5	0,33
01/04/09	0,6	0,2	0,3	0,38
02/04/09	0,7	0,3	0,3	0,45
03/04/09	0,7	0,3	0,3	0,48
06/04/09	0,6	0,3	0,4	0,43
08/04/09	0,8	0,4	0,4	0,46
13/04/09	0,6	0,3	0,3	0,49
15/04/09	0,7	0,3	0,4	0,46
17/04/09	0,3	0,1	0,3	0,36
22/04/09	0,7	0,3	0,4	0,48
23/04/09	0,9	0,5	0,4	0,51
27/04/09	0,6	0,2	0,3	0,37
12/05/09	0,6	0,3	0,3	0,49
22/05/09	1,2	0,6	0,6	0,49
25/05/09	0,5	0,1	0,3	0,27
02/06/09	20,6	0,2	20,4	0,21
05/06/09	20,8	13,0	7,8	0,62
16/06/09	25,1	16,7	8,5	0,66
17/06/09	9,7	6,4	3,3	0,65
18/06/09	25,6	17,4	8,5	0,66
23/06/09	19,3	12,6	6,6	0,65
26/06/09	10,3	6,5	3,9	0,62
30/06/09	24,0	16,0	8,1	0,66
02/07/09	24,3	15,9	8,4	0,65

FONTE: autor (2009)

ANEXO III - PARÂMETROS REFERENTES AO CONJUNTO DE SÓLIDOS DO REATOR RM

Data	STT (g/L)	STV (g/L)	STF (g/L)	STV/STT
12/05/09	0,6	0,4	0,2	0,72
22/05/09	0,5	0,2	0,3	0,35
05/06/09	0,5	0,2	0,3	0,35
16/06/09	0,6	0,3	0,3	0,48
30/06/09	0,7	0,3	0,4	0,46
02/07/09	0,7	0,3	0,4	0,42

FONTE: autor (2009)

ANEXO IV - PARÂMETROS REFERENTES A ALCALINIDADE, pH E RELAÇÃO α DO LODO BRUTO

Data	pH	Alcalinidade pH = 5,75	Alcalinidade pH = 4,3
13/02/09	7,4	852,2	1901,6
19/02/09	6,9	659,3	1585,8
23/02/09	7,0	699,6	1626,0
05/03/09	7,6	1028,2	2092,4
29/03/09	7,5	934,0	1752,0
16/06/09	7,2	818,4	1516,0
30/06/09	6,9	645,5	1477,1
05/07/09	7,4	857,3	1829,5

FONTE: autor (2009)

**ANEXO V - PARÂMETROS REFERENTES A ALCALINIDADE, pH E RELAÇÃO α
DO LODO PRÉ-TRATADO (RT)**

Data	pH	Alcalinidade (mg CaCO₃/L) pH = 5,75	Alcalinidade (mg CaCO₃/L) pH = 4,3	Relação α
12/02/09	7,0	426,1	1994,9	0,21
13/02/09	6,4	245,9	2069,1	0,12
16/02/09	7,0	636,0	1633,6	0,39
18/02/09	7,7	593,6	1028,2	0,58
19/02/09	6,1	91,2	1219,0	0,07
20/02/09	6,4	292,6	2221,8	0,13
23/02/09	7,5	720,8	1375,9	0,52
25/02/09	7,5	725,0	1378,0	0,53
27/02/09	7,1	460,0	1590,0	0,29
03/03/09	7,1	72,8	156,0	0,47
05/03/09	6,9	295,4	1268,8	0,23
09/03/09	7,9	249,6	451,4	0,55
19/03/09	7,9	264,2	468,0	0,56
17/03/09	7,9	426,4	1023,4	0,42
23/03/09	8,1	208,0	320,3	0,65
24/03/09	7,8	183,0	347,4	0,53
25/03/09	7,5	216,2	460,0	0,47
01/04/09	7,5	568,2	1144,8	0,50
02/04/09	7,5	568,2	1144,8	0,50
03/04/09	7,6	624,0	1268,8	0,49
06/04/09	7,7	640,6	1171,0	0,55
08/04/09	7,1	166,4	545,0	0,31
13/04/09	7,3	176,8	322,4	0,55
15/04/09	7,1	411,8	1325,0	0,31
17/04/09	7,6	271,4	746,2	0,36
22/04/09	8,5	241,4	382,9	0,63
23/04/09	8,6	249,0	382,9	0,65
27/04/09	8,3	207,5	305,5	0,68
12/05/09	7,5	646,1	1406,9	0,46
22/05/09	8,4	352,0	650,0	0,54
25/05/09	8,1	474,0	1000,0	0,47
02/06/09	7,2	744,5	1877,0	0,40
05/06/09	7,7	837,2	1581,6	0,53
16/06/09	7,6	480,0	1084,0	0,44
17/06/09	7,4	486,0	1282,0	0,38
18/06/09	7,4	757,5	1664,5	0,46
19/06/09	7,8	375,7	789,8	0,48
22/06/09	7,9	442,4	1145,3	0,39
23/06/09	7,7	484,8	1161,5	0,42
26/06/09	7,5	577,7	1298,9	0,44
30/06/09	7,0	693,0	1784,0	0,39
02/07/09	7,1	637,6	1744,4	0,37

FONTE: autor (2009)

**ANEXO VI - PARÂMETROS REFERENTES A ALCALINIDADE, pH E RELAÇÃO
α DO LODO DE DESCARTE DE RH**

Data	pH	Alcalinidade (mg CaCO₃/L) pH = 5,75	Alcalinidade (mg CaCO₃/L) pH = 4,3	Relação α
23/02/09	7,8	1180,8	1458,6	0,80
25/02/09	7,2	1132,1	1534,9	0,74
27/02/09	7,1	1134,2	1623,9	0,69
28/02/09	7,1	1123,6	1592,1	0,70
02/03/09	7,2	137,3	197,6	0,69
03/03/09	7,3	135,2	195,5	0,69
04/03/09	7,5	141,4	228,8	0,61
05/03/09	7,5	1121,5	1621,8	0,69
09/03/09	8,0	1517,9	1727,8	0,87
10/03/09	8,1	1293,2	1479,8	0,87
16/03/09	8,0	1282,6	1431,0	0,89
17/03/09	8,5	975,2	1208,4	0,80
19/03/09	8,5	896,8	1091,8	0,82
23/03/09	7,7	987,9	1246,6	0,79
24/03/09	8,0	911,6	1272,0	0,71
25/03/09	8,1	1013,0	1123,2	0,90
01/04/09	8,6	884,0	956,8	0,92
03/04/09	8,5	750,9	838,2	0,89
06/04/09	8,1	807,0	886,1	0,91
08/04/09	8,2	842,4	936,0	0,90
13/04/09	8,3	877,8	969,3	0,90
17/04/09	8,6	763,4	834,1	0,91
22/04/09	8,1	816,6	895,9	0,91
23/04/09	7,9	792,1	882,6	0,89
27/04/09	8,1	775,1	856,2	0,90
12/05/09	7,8	976,2	1073,0	0,91
22/05/09	7,8	976,0	1052,0	0,92
25/05/09	7,9	910,0	1000,0	0,91
05/06/09	7,6	1201,2	1428,7	0,84
16/06/09	7,8	1800,0	2480,0	0,72
17/06/09	8,4	1820,0	2156,0	0,84
18/06/09	8,0	1762,0	2400,0	0,73
23/06/09	7,9	1577,6	2094,7	0,75
26/06/09	8,2	1466,5	1779,6	0,82
30/06/09	7,7	1537,2	2143,2	0,71

FONTE: autor (2009)

**ANEXO VII - PARÂMETROS REFERENTES A ALCALINIDADE, pH E RELAÇÃO α
DO EFLUENTE DE RM**

Data	pH	Alcalinidade pH 5,75	Alcalinidade pH 4,3	Relação α
12/05/09	8,4	677,3	769,1	0,88
22/05/09	8,4	636,0	712,0	0,89
05/06/09	8,2	509,6	576,9	0,88
16/06/09	8,3	592,0	690,0	0,85
30/06/09	8,1	772,2	940,5	0,82
02/07/09	8,6	930,6	1108,8	0,84

FONTE: autor (2009)

**ANEXO VIII – RESULTADO DA MÉDIA DOS VALORES DA DQO_{SOLÚVEL} NO
LODO BRUTO**

Data	DQO_{Solúvel} (mg O₂/L)
11/02/09	89334,0
12/02/09	143424,0
13/02/09	177288,0
18/02/09	18326,4
19/02/09	24302,4
23/02/09	784,2
25/02/09	3921,2
27/02/09	7842,4
05/03/09	5881,8
29/05/09	1960,6
16/06/09	1960,6

FONTE: autor (2009)

ANEXO IX – RESULTADO DA MÉDIA DOS VALORES DA DQO_{SOLÚVEL} NO LODO PRÉ-TRATADO (RT)

Data	DQO_{Solúvel} (mg O₂/L)
12/02/09	3968,2
13/02/09	11764,7
16/02/09	10783,3
18/02/09	183264,0
19/02/09	10358,4
23/02/09	3921,2
25/02/09	3921,2
27/02/09	7842,4
03/03/09	5881,8
05/03/09	9803,0
09/03/09	795,8
16/03/09	373,1
17/03/09	9328,0
23/03/09	1185,8
24/03/09	2371,5
25/03/09	1185,8
01/04/09	1984,1
02/04/09	1984,1
03/04/09	5952,4
06/04/09	9505,0
08/04/09	2289,8
13/04/09	3053,1
17/04/09	3759,2
22/05/09	13202,0
05/06/09	71979,8
16/06/09	1960,6
17/06/09	7781,6
18/06/09	2066,0
22/06/09	5836,2
23/06/09	7781,6
26/06/09	3890,8
03/07/09	10330,0

FONTE: autor (2009)

ANEXO X – RESULTADO DA MÉDIA DOS VALORES DA DQO_{SOLÚVEL} DO EFLUENTE DE RM

Data	DQO_{Solúvel} (mg O₂/L)
12/02/09	565,8
13/02/09	377,2
16/06/09	392,1
30/06/09	1033,0
02/07/09	826,4

FONTE: autor (2009)